

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1931-1932.

N° 14.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
PHOSPHORE SANGUIN

appliquée à la physiologie et à la pathologie

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 1932

PAR

Georgette CHARLES

Pharmacien de Première Classe

JURY { MM. COUTIÈRE, Président.
FABRE, Professeur.
DELABY, Agrégé.

PARIS
CHARLES-LAVAUZELLE & C^{ie}
ÉDITEURS

1932

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1931-1932.

N° 14.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
PHOSPHORE SANGUIN

appliquée à la physiologie et à la pathologie

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le

1932

PAR

Georgette CHARLES

Pharmacien de Première Classe

JURY { MM. COUTIÈRE, Président.
FABRE, Professeur.
DELABY, Agrégé.

PARIS

CHARLES-LAVAUZELLE & C^{ie}

ÉDITEURS

1932

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. P. GUÉRIN, Doyen, *, ☉ I.
 P. LEBEAU, Assesseur, O. *, ☉ I.
 G. DURSENT, Secrétaire, *, ☉ I.

Professeurs

MM. GUÉRIN, *, ☉ I. Botanique générale.
 BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, ☉ I. Chimie organique.
 PERROT, O. *, ☉ I. Histoire naturelle des Médicaments.
 COUTIERE, O. *, ☉ I. Zoologie.
 LEBEAU, O. *, ☉ I. Pharmacie chimique.
 BOUGAULT, *, ☉ I. Chimie analytique.
 GORIS, *, ☉ I. Pharmacie galénique.
 TASSILY, *, ☉ I. Physique.
 DAMIENS, *, ☉ I. Chimie minérale.
 HÉRISSEY, O. *, ☉ I. Chimie biologique.
 SOMMELET, *, ☉ I. Hydrologie et Hygiène.
 LUTZ, *, ☉ I. Cryptogamie et Microbiologie.
 FABRE, ☉ I. Toxicologie.
 LAUNOY, O. *, ☉ I. Professeur sans chaire.
Doyen Honoraire : M. RADAIS, O. *, ☉ I.
Professeurs Honoraires : MM. A. VILLIERS, *, ☉ I.
 DÉLÉPINE, O. *, ☉ I.
 GUERBET, O. *, ☉ I.

Chargés de cours

MM. Marc HONORAT, *, ☉ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
 LAUNOY, O. *, ☉ I. Pharmacodynamie.
 DELABY, *, ☉ I. Minéralogie.
 BACH, ☉ I. Microbiologie.

Agrégés en exercice

MM. DELABY, *, ☉ I.	MM. MASCRÉ, ☉ I.	MM. BEDEL, ☉ I.
PICON, ☉ I.	FLEURY, ☉ I.	RÉGNIER, ☉ I.
	BACH, ☉ I.	

Chefs des travaux pratiques

MM. BEDEL, *, ☉ I., agrégé chargé des T. P. de 1^{re} année. Chimie générale.
 FLEURY, ☉ I. et RÉGNIER, ☉ I., agrégés, chargés des travaux de Chimie analytique.
 SOUÈGES, ☉ I. Micrographie.
 LEROUX, ☉ I. Physique.
 DEVAL, ☉ I. Microbiologie.
 DELABY, *, ☉ I., PICON, ☉ I. et MASCRÉ, ☉ I., agrégés, chargés des. Travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, ☉ I.



Administration

LE PRÉSIDENT, Docteur * * *
LE VICE-PRÉSIDENT, Assesseur O * *
LE SECRÉTAIRE, Assesseur * * *

Professeurs

A LA MÉMOIRE DE MES PARENTS.

Chimie organique
Physiologie naturelle des Médicaments
Toxicologie
Pharmacologie
Pharmacologie clinique
Chimie analytique
Pharmacologie galénique
Physiologie
Chimie minérale
Chimie physiologique
Chimie physiologique

A MES GRANDS-PARENTS.

Docteur sans chair
BADAIS O * *
VILLIERS * *
LEPRINCE O * *
LEPRINCE O * *

MEIS ET AMICIS.

LE PRÉSIDENT, Docteur * *
LE VICE-PRÉSIDENT, Assesseur O *
LE SECRÉTAIRE, Assesseur * *

Digitized by the Internet Archive
in 2026

PLAN

INTRODUCTION.

CHAPITRE I^{er}. — *Considérations générales sur le métabolisme du phosphore dans l'organisme.*

a) Bilan du phosphore.

b) Physiologie.

CHAPITRE II. — *La chimie du phosphore.*

CHAPITRE III. — *Etude du phosphore tissulaire.*

CHAPITRE IV. — *Etude du phosphore sanguin.*

Ses variations physiologiques et pathologiques et leurs répercussions sur l'élimination urinaire du phosphore.

CHAPITRE V. — *Historique des techniques.*

CHAPITRE VI. — *Méthodes employées dans ce travail.*

CHAPITRE VII. — *Résultats obtenus en physiologie et en pathologie.*

CONCLUSIONS.

INTRODUCTION

L'importance biologique du phosphore justifie les recherches variées que les chimistes et les physiologistes ont poursuivies ces dernières années. Ce métalloïde est l'un des éléments les plus répandus dans les tissus animaux soit sous sa forme minérale, soit sous sa forme organique, et il est permis de penser que le phosphore joue un rôle important dans les processus biologiques. La complexité des composés organiques du phosphore entraîne des difficultés de dosage et explique les opinions peu concordantes qui ont été émises à son sujet.

De nombreuses techniques de dosage du phosphore ont été publiées; les unes sont inexactes, les autres sont précises, mais extrêmement longues à réaliser. Nous avons tenté de dégager de toutes ces méthodes celles qui peuvent être appliquées au laboratoire clinique, qui peuvent donner satisfaction par leur rendement et dont le temps de réalisation n'est pas trop long.

La scolarité achevée, les étudiants savent qu'ils devront prendre la décision de diriger une officine; ils sont alors très heureux de trouver en leurs maîtres de Faculté des conseillers et des guides précieux qui veulent bien leur ouvrir les portes de leurs laboratoires.

C'est dans cet esprit de reconnaissance que nous tenons vivement à remercier M. le Professeur Coutière, qui a bien voulu nous accepter au nombre de ses élèves et présider notre jury de soutenance.

Nous remercions également M. le Professeur Marcel Labbé, pour l'accueil si bienveillant qu'il nous a réservé dans sa clinique de l'Hôpital de la Pitié, où il a mis à notre disposition les ressources de son service.

Nous gardons une profonde gratitude à M. le Docteur Nepveux, qui nous a suggéré le sujet de ce Mémoire, et à M. le Docteur Fabrykant, pour l'intérêt qu'il a pris à nos recherches.

Que M. le Professeur Fabre et M. le Professeur agrégé Delaby, qui ont bien voulu accepter de faire partie de notre jury, trouvent ici l'expression de notre reconnaissance.

CHAPITRE PREMIER.

Considérations générales sur le métabolisme du phosphore dans l'organisme.

A. — Bilan du phosphore.

B. — Physiologie.

A. — BILAN PHOSPHORÉ.

L'alimentation quotidienne, qu'elle soit d'origine végétale ou animale, apporte à l'homme une quantité importante de phosphore sous des états chimiques les plus divers. Il semble bien qu'il n'y ait pas eu, jusqu'à présent, de travaux précis sur l'établissement des bilans phosphorés, en vue de déterminer les besoins réels de l'organisme en phosphore.

On admet généralement qu'un sujet normal, en état d'équilibre de nutrition, doit ingérer 2 grammes environ de phosphore, exprimés en $\text{PO}^4 \text{H}^3$, par vingt-quatre heures; mais ce chiffre ne doit être retenu qu'avec réserve.

Pour déterminer correctement le bilan phosphoré chez l'homme, il importe de connaître la teneur exacte des aliments en phosphore et celle de l'urine et des fèces estimées suivant la même technique de dosage chimique.

A titre d'indication, nous reproduisons le tableau de Baland (1) [A] qui donne la quantité de phosphore exprimé en P et en $\text{P}^2 \text{O}^5$, dans un certain nombre d'aliments considérés à l'état normal et à l'état sec (pour 100 grammes de substances).

(A) NOTA. — Les appels de note du texte renvoient aux numéros de la Bibliographie figurant à la fin de cette thèse.

	P ÉTAT normal.	ÉTAT sec.	P ² O ³ ÉTAT normal.	ÉTAT sec.
<i>Céréales, légumes et fruits.</i>				
Pain de Paris.	0,08	0,11	0,18	0,25
Pain de munition.	0,13	0,18	0,29	0,49
Gâteau pour le thé.	0,14	0,15	0,32	0,35
Artichaut (feuilles).	0,06	0,25	0,13	0,59
— (fond).	0,02	0,18	0,05	0,42
Asperges (pointes).	0,07	0,88	0,16	2,01
Banane.	0,11	0,13	0,27	0,31
Cerises.	0,02	0,13	0,05	0,30
Chou.	0,04	0,53	0,09	1,21
Datte.	0,13	0,15	0,30	0,37
Figues sèches.	0,07	0,10	0,17	0,22
Fraises.	0,03	0,29	0,07	0,67
Haricots.	0,44	0,51	1. »	1,16
Laitue.	0,04	1,02	0,09	2,35
Orange.	0,02	0,19	0,05	0,45
Petits pois.	0,10	0,57	0,27	1,52
Pomme de terre.	0,10	0,19	0,22	0,43

Viandes et poissons.

Bœuf.	0,19	0,53	0,45	1,22
Mouton.	0,15	0,28	0,36	0,64
Poulet.	0,22	0,56	0,51	1,29
Morue (huile).	» »	0,05	» »	0,12
Huîtres.	0,12	0,67	0,26	1,53
Moules.	0,14	0,78	0,31	1,79

Laitages.

Beurre d'Isigny.	0,06	0,07	0,13	0,15
Brie.	0,30	0,59	0,68	1,34
Gruyère.	0,79	1,09	1,81	2,49
Gervais.	0,18	0,30	0,43	0,70

Boissons.

Cidre (extrait sec).	» »	0,21	» »	0,49
Vin (extrait sec).	» »	0,45	» »	1,02
Café.	0,13	0,14	0,28	0,30
Cacao.	0,45	0,48	1,04	1,11

Il y a cependant intérêt, quand on veut établir un bilan phosphoré précis, à doser soi-même le phosphore apporté par le régime alimentaire, car nous savons qu'il peut y avoir des variations dans la teneur de cet élément en fonction de la maturité de la plante, de la purification du produit (blutage des farines par exemple), de l'âge de l'animal dont la viande sera consommée, etc...

Tous ces dosages de phosphore alimentaire ne nous renseigneront pas sur les quantités de phosphore organique ou minéral présent dans l'aliment étudié, mais nous donneront seulement le phosphore total, dosé après minéralisation par voie humide (méthode sulfo-nitrique).

Il n'en reste pas moins vrai que l'étude du bilan du phosphore, c'est-à-dire l'estimation des entrées et des sorties, n'est pas un travail aisé, et il ne semble pas, jusqu'à présent, qu'on ait pu déterminer d'une façon rigoureuse le besoin minimum réel de phosphore pour un individu normal. On ne peut, en effet, réduire au delà d'une certaine limite l'apport de phosphore, car, dans des états de jeûne, la déperdition de phosphore est supérieure à l'apport.

En dehors de la variation de la teneur des aliments en phosphore, il ne faut pas se contenter, comme on le fait le plus souvent, de doser le phosphore éliminé par le rein, mais doser celui éliminé par l'intestin; en outre, il faudrait logiquement y ajouter celui éliminé par la peau (sueur), par le lait (le phosphore contenu dans le lait de femme est formé pour 85 p. 100 par du phosphore organique : paranucléine, lécithine et peut-être hexose-phosphates; le reste, c'est-à-dire 15 p. 100, est représenté par du phosphore minéral).

L'élimination normale du phosphore se fait presque exclusivement à l'état de sels de l'acide phosphorique. La quantité totale excrétée par vingt-quatre heures est variable avec le régime.

Il y a, en somme, une grande difficulté à établir des bilans phosphorés et c'est la raison pour laquelle, aujourd'hui, on cherche à se rendre compte de la biochimie du phosphore autrement que par les bilans. Ce n'est pas à

dire que l'étude du phosphore sanguin, sous ses différentes formes chimiques, nous fournira des réponses exactes aux perturbations du métabolisme de ce métalloïde, mais nous pensons qu'une contribution à cette étude pourra peut-être apporter quelques données nouvelles au problème.

B. — PHYSIOLOGIE.

Les anciens travaux ont surtout porté sur l'étude du phosphore minéral, dont le tissu osseux contient la plus grande partie (phosphate de chaux). Ce phosphore osseux est presque entièrement insoluble et l'on peut le considérer comme une réserve à peu près inerte. Ce n'est que dans des états pathologiques (rachitisme par exemple) que l'on constate un métabolisme phospho-calcique anormal.

Le phosphore minéral se rencontre dans les aliments (surtout végétaux) et s'élimine par les urines, sous forme d'acide phosphorique combiné à des bases alcalines (potassium, sodium), alcalino-terreuses (calcium) et terreuses (magnésium).

Les sels monoacides et biacides de sodium et de potassium sont solubles et se trouvent dans les urines sous forme de phosphates monosodiques et disodiques. Les sels trimétalliques neutres se rencontrent dans la charpente osseuse; ils s'éliminent par l'intestin (phosphate tricalcique) et par le rein, quand il y a alcalose urinaire.

Dans ces dernières années, les recherches ont surtout porté sur le métabolisme du phosphore organique.

1° *Rôle du phosphore dans le métabolisme des protéides.*

Eggleton (2) a pu isoler des muscles des Vertébrés un composé phosphoré très labile, le « phosphagène », qui est un acide créatine-phosphorique; il se trouve chez tous les Vertébrés, alors que, chez les Invertébrés, c'est l'acide arginine-phosphorique qui est isolé du muscle. Il semble donc que le métabolisme du phosphore soit différent chez les Vertébrés et chez les Invertébrés.

En petite quantité, le phosphore nucléique aurait la propriété de retarder la désassimilation de la protéine organique, c'est-à-dire qu'il n'augmente pas l'assimilation azotée, mais retarde la destruction de la molécule d'albumine.

Les nucléo-protides semblent douées de propriétés bactéricides, leur affinité pour les métaux tels que le fer permet d'expliquer leur action dans le développement de la vie cellulaire; on a cherché à doser dans un tissu la fraction de son phosphore qui se trouve engagée dans la molécule de « ses nucléoprotides » (3). Ces derniers sont soumis à la dégradation qui donne des formes transitoires ou ultimes que l'on trouve dans les tissus et les humeurs. De même, il doit exister dans les mêmes milieux des étapes intermédiaires de la synthèse des composés nucléo-protéidiques.

Quels principes phosphorés entreront en ligne de compte quand on dosera ce phosphore? Il semble qu'il y aurait intérêt à saisir de préférence, s'il est possible, le phosphore qui se trouverait engagé dans les molécules de la plus haute complexité. Savoir doser ce phosphore permettrait de déterminer la masse nucléaire, de pénétrer l'étude des équilibres phosphorés des cellules et des effets de l'alimentation défectueuse, avitaminée ou carencée; il serait peut-être plus facile de comprendre l'histogénèse, la croissance, le rajeunissement et le vieillissement des cellules, et certains déséquilibres fonctionnels provoquant des phénomènes pathologiques comme les cancers.

2° Rôle du phosphore dans le métabolisme des lipides.

Le rôle physiologique du phosphore lipidique est loin d'être élucidé. Autrefois, les recherches ont porté sur la présence des savons dans le sérum sanguin (4); pendant longtemps, on ne les dosait pas, car leur détermination présentait de grandes difficultés. On ne peut les doser que par pesée de leurs acides gras, d'où la nécessité de les isoler des autres lipides. Malheureusement, les savons n'ont pas de solvants spécifiques et il n'existe pas non plus de solvant

des lipides dans lequel les savons soient absolument insolubles (4).

L'étude du métabolisme des graisses et des lipides du sang et celle des déviations à l'état pathologique sont assez difficiles, et ne peuvent être abordées qu'en employant des microméthodes d'analyse.

D'après M^{re} Lebreton, il y aurait intérêt, au point de vue physiologique, à effectuer un dosage global de phosphatides; cet auteur pense que « c'est à la possibilité de ce dosage que sont liés les progrès de nos connaissances sur le rôle joué par les phosphatides dans le métabolisme intime des graisses, dans la respiration élémentaire des tissus (6) ». La notion de phosphore lipidique permet d'étudier le rôle biologique des phosphatides tout comme « la notion d'azote total a permis d'établir les lois fondamentales du métabolisme des albuminoïdes », alors que la composition de ces substances n'était pas encore complètement connue (4).

Le phosphore lipidique total a été considéré comme un élément de mesure des phosphatides. C'est ainsi que l'on a étudié les variations du phosphore lipidique total au cours des régimes alimentaires variés (7). On a constaté que les moyennes en phosphore lipidique ne changent presque pas; l'inanition n'influe pas sur la teneur des organes en phosphore lié aux lipides. La suralimentation prolongée, l'ingestion d'une quantité considérable de phosphatides sous forme de jaunes d'œufs, ne semble pas modifier profondément la teneur des organes en phosphore lié aux phosphatides. Dans l'ensemble, ces expériences, faites sur des animaux, montrent que la teneur des organes en phosphore lipidique ne semble pas être sous la dépendance immédiate de la variation de régime. Le phosphore lipidique est un élément qui, dans les cellules, ne varie ni au cours de l'inanition, ni au cours de la suralimentation. Ce n'est pas une réserve, c'est un élément cellulaire permanent, c'est une constante cellulaire.

Les lipides phosphorés, constituants cellulaires fondamentaux, formeraient une part très importante du protoplasma. D'après A. Mayer et G. Schaeffer (7), les lipides

phosphorés jouent un rôle capital dans les phénomènes d'imbibition cellulaire par l'eau. En effet, si l'on rapporte au poids humide des tissus leur teneur en phosphore lipidique total, on trouve une teneur constante et caractéristique de chaque tissu dans les différentes espèces, bien que cette teneur, rapportée au tissu sec, soit variable. A la constatation classique de la présence de phosphore lipidique dans les cellules vivantes, on peut ajouter celle que le phosphore est présent, « dans une proportion donnée, dans un type cellulaire donné ». Dans une espèce animale, le phosphore lié aux lipides est assez caractéristique de l'organe considéré; il est plus abondant dans le rein ou dans le foie que dans le muscle.

Le tableau suivant indique quelles sont les moyennes des teneurs en phosphore des différents organes :

	FOIE.	REIN.	POUMON.	PANCREAS.	MUSCLE.
Homme.	0,44	0,40	0,75	0,21	0,10
Chien.	0,49	0,54	0,45	0,44	0,20
Lapin.	0,54	0,54	0,49	» »	0,17
Cobaye.	0,56	0,64	0,66	» »	0,24
Pigeon.	0,49	0,64	0,44	» »	0,32
Anguille.	0,39	0,54	» »	» »	0,10

(MAYER et SCHAEFFER.)

Certains auteurs se sont proposé d'établir des coefficients reliant le poids d'un organe au poids du corps; connaissant la teneur de cet organe en phosphore lipidique, ils ont cherché comment cette teneur varie avec le poids de l'animal considéré. A titre d'exemple, nous citons les chiffres obtenus dans les rapports du poids du foie au poids du corps : Bœuf : 0,24; Homme : 0,34; Chien : 0,41; Lapin : 0,61; Cobaye : 0,62; Souris : 0,69.

Chez les Mammifères, le phosphore lipidique hépatique augmente alors que le poids du corps diminue. La teneur en phosphore lipidique hépatique paraît donc varier comme l'activité de cet organe, et peut-être comme les processus généraux d'oxydation dont il est le siège.

Jusqu'en 1921, on n'avait aucune méthode d'isolement quantitatif des phosphatides permettant de les séparer et de les doser individuellement; on devait se contenter d'une évaluation indirecte de leur ensemble. C'est à cette nécessité que l'on doit l'introduction, en chimie physiologique, de la notion de phosphore lipidique total, permettant d'étudier le rôle biologique des phosphatides. On est ainsi arrivé à considérer le phosphore lié aux lipides comme une constante des tissus caractéristique de chacun d'eux.

Le rôle physiologique des phosphatides n'est qu'entrevu.

On connaît l'action anti-hémolysante de la lécithine et ses effets contre les intoxications. La découverte de la lécithinase dans les surrénales, connue par les physiologistes comme jouant un rôle dans le métabolisme des lipides, permet de penser que la molécule phosphorée intervient dans les transformations des lipides.

La lécithine sanguine peut, selon Flexner, Noguchi, Delezenne, Fournneau et M^{me} Ledebt, faciliter le processus de l'hémolyse (par le venin de cobra par exemple); mais *in vivo*, en présence de calcium, elle devient anti-hémolysante (par l'absorption de la cholestérine qui se fixe sur elle). Les phosphatides, surtout ceux du tissu nerveux, en tant que lipides, facilitent également l'action des anesthésiques. La lécithine sanguine, de même que la cholestérine, peut lutter contre les accidents de la narcose et contre les intoxications.

3° Rôle du phosphore dans le métabolisme des glucides.

Il y a un rapport entre le travail musculaire exigeant une dépense des glucides et l'élimination d'acide phosphorique. Au cours du travail, il y a une forte augmentation de l'acide phosphorique urinaire, alors que le repos au lit entraîne une forte diminution. Ces faits se confirment en ce qui concerne le muscle lui-même. Dès le début de l'excitation musculaire, l'acide phosphorique apparaît et diminue ensuite. Ces expériences ont été faites sur des muscles de grenouille, et il a même été possible de mettre en évidence la relation qui existe entre la fatigue et l'élimi-

nation de l'acide phosphorique, et l'excitabilité d'un muscle peut être déduite de la quantité d'acide phosphorique éliminée.

Dans le muscle, on observe une libération d'acide lactique et d'acide phosphorique, mais jamais en proportion équimoléculaire; il semble qu'il doit y avoir, à la base, un complexe générateur d'acide lactique et d'acide phosphorique qu'Embsden a appelé le lactacidogène et qui est, sans doute, un éther hexose-phosphorique (9, 10).

Les phosphates semblent donc jouer un rôle important dans la transformation des glucides au niveau du muscle; on a essayé d'isoler les complexes phosphorés intermédiaires, on a pu montrer l'existence de l'éther hexose-biphosphorique, puis celle des éthers hexoses-monophosphoriques, « mais on ne peut affirmer que, dans le muscle entier, de tels éthers se forment et qu'en tout cas aucun de ces corps n'est l'intermédiaire cherché; nous savons bien que les corps importants sont des corps fugaces, et que nous devons souvent nous contenter d'isoler des individualités chimiques qui ne sont que des témoins ».

D'après Roche (12), les phosphates interviendraient dans la glycolyse du sang, ils la favorisent quand certaines conditions de pH sont observées; au cours de la glycolyse du sang *in vitro*, il y a formation d'un éther phosphorique qu'on peut avec vraisemblance considérer comme un acide hexose-phosphorique. En raisonnant par analogie, avec nos connaissances actuelles, sur le rôle de la formation d'un tel composé dans le muscle, on peut penser que sa synthèse est la première étape de la dégradation du glucose dans le sang.

Toutes ces données physiologiques du phosphore lié aux hydrates de carbone sont complétées par un exposé chimique qui fait l'objet d'un autre chapitre.

En résumé, le métabolisme du phosphore dans les tissus est encore mal connu. Cependant, l'étude des composés phosphorés intervenant dans le métabolisme des glucides et des protides montre que le phosphore ne joue pas seulement un rôle dans la formation de la cellule, mais qu'il

prend aussi une part importante dans le processus d'assimilation et de désassimilation de la matière vivante.

De toutes ces découvertes, il ressort nettement que le phosphore peut entrer en combinaison soit avec les hydrates de carbone, soit avec les lipides, soit avec des corps azotés, pour donner des complexes qui entrent en jeu dans la vie de relation.

CHAPITRE II.

La biochimie du phosphore.

Les auteurs classiques distinguent deux principales formes chimiques de phosphore dans l'organisme :

Le phosphore minéral;

Le phosphore organique.

Nous allons passer en revue ces deux formes de phosphore, et montrer l'intérêt qu'il y a, — lorsqu'on veut étudier le phosphore du sang, — à préciser, d'une part, les différentes formes chimiques du phosphore, et, d'autre part, les indications que l'on peut en retirer en biologie.

A. — PHOSPHORE MINÉRAL.

Le phosphore minéral se trouve dans l'organisme à l'état de phosphates; dans le sang, ce métalloïde se présente sous forme de sels de l'acide phosphorique lié à divers métaux : sodium, potassium, calcium, magnésium; dans l'urine, le phosphore minéral est constitué par les phosphates de soude, de chaux, de magnésie, de potassium et les phosphates ammoniaco-magnésiens; dans les autres humeurs, l'état chimique du phosphore est encore inconnu.

La démarcation entre le phosphore sous sa forme minérale et sous sa forme organique n'est pas précisée, et il est même possible que les résultats de laboratoire ne soient pas en accord avec ce qui se passe dans l'organisme; ce que l'on dose sous forme minérale pourrait, *in vivo*, ne pas exister sous cette forme.

D'autre part, le phosphore minéral dans l'organisme était jusqu'à présent identifié à l'état de méta et d'ortho-phosphate; or, Lohmann (13) a découvert récemment des pyrophosphates.

B. — PHOSPHORE ORGANIQUE.

Il est formé de trois parties :

Phosphore protidique (ou organique non lipidique);

Phosphore lipidique;

Phosphore glucidique.

Mais il est possible que le sang, ainsi que les autres humeurs, renferme d'autres combinaisons phosphorées qui nous échappent. Les deux premières formes sont connues de longue date, la dernière fait l'objet de recherches plus récentes.

1° *Phosphore protidique.*

Il comprend trois catégories de corps :

a) LES NUCLEOPROTIDES. — Ces corps sont formés par la combinaison d'une protéine avec un complexe phosphoré : la nucléine. Cette nucléine comprend elle-même une protéine et un acide phosphoré : l'acide nucléique, qui est formé de quatre molécules d'acide phosphorique, dont chacune forme une combinaison éthérée avec un reste hydrocarboné (hexose ou pentose), lié lui-même à la manière d'un glucoside à une base purique ou pyrimidique.

Par dédoublement, les nucléoprotides donnent :

1° Des substances albuminoïdes qui peuvent être des albumines proprement dites (sperme et noyaux cellulaires des animaux supérieurs) ou des matières protéiques spéciales, telles que les protamines des spermes de poissons, les histones;

2° Un groupement azoté et phosphoré particulier, les nucléines; les acides dilués dédoublent les nucléines, en donnant des matières albuminoïdes ou leurs produits d'hydrolyse et des acides nucléiques riches en phosphore, et ont la propriété particulière de dissoudre l'acide urique.

L'hydrolyse par l'acide sulfurique étendu, ou l'action de certains venins de serpents, les dédoublent en :

- 1° Acide ortho ou méta-phosphorique;
- 2° Hydrates de carbone;
- 3° Composés pyrimidiques;
- 4° Composés puriques (adénine et guanine).

Tous ces corps sont soudés les uns aux autres dans la molécule des acides nucléiniques, formant des produits de condensation de l'acide phosphorique avec des hydrates de carbone et des corps puriques; ce sont les nucléotides.

Ces réactions de dégradation se font par hydrolyse, sous l'influence de diastases : trypsine, nucléase, adénase, guanine, phosphatase, etc.; nous reviendrons, dans un chapitre ultérieur, sur ces diastases.

On peut interpréter par le tableau suivant le schéma du dédoublement des nucléoprotides (14) :

Nucléoprotides

(moins de 1% de P.)

dédoubleés par pepsine + H Cl.

en :

Albumines
ou dérivés

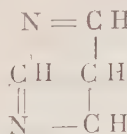
Nucléines (2 à 7% de P.)
en solution alcaline alcoolique,
se dédoubleant par les acides
en

Albumines
ou dérivés

Acides nucléiniques (9 à 10% de P.)
se dédoublent par les acides étendus
en

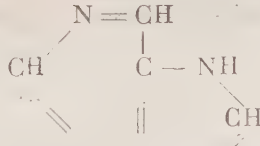
Acide phosphorique
ou
métaphosphorique

Dérivés de la
pyrimidine



(cytosine, uracile, thymine)

Corps dérivés
de la purine



(adénine, guanine)

Hydrates
de carbone
en C⁶
ou en C⁵.

Les nucléoprotides, ou plus exactement les acides nucléiques en combinaison avec la protéine, constituent la matière principale des noyaux cellulaires; on les rencontre également à l'état de fines granulations dans le protoplasma des cellules; ils sont donc répartis dans tous les tissus de l'organisme.

b) LES NUCLÉOTIDES. — Ils font partie des acides nucléiques. Ils ne forment pas les noyaux cellulaires comme les nucléoprotides. Liebig (15) les a extraits du tissu musculaire à l'état d'acide inosique. Leur dédoublement fournit du phosphore lié à un groupe hydrocarboné et à un groupe purique, sans groupement pyrimidique.

c) LES PARANUCLÉINES OU PSEUDONUCLÉINES. — Le type en est fourni par les caséines de divers laits, vitellines du jaune d'œuf, etc... Elles se distinguent des nucléoprotides parce qu'elles ne contiennent pas de groupe purique; elles ne peuvent donc pas donner naissance à l'acide urique, et ne rentrent pas dans la constitution des noyaux cellulaires.

II. — *Phosphore lipidique* (phosphatides):

La classification de Thudichum (16), la plus simple et la plus rationnelle, divise les phosphatides suivant le rapport du phosphore à l'azote contenu dans leur molécule.

1° Monoaminophosphatides :

$$N = 1 \qquad P = 1$$

(lécithine, céphaline, myéline, paramyéline).

2° Monoaminodiphosphatides :

$$N = 1 \qquad P = 2$$

(couorine).

3° Diaminomonophosphatides :

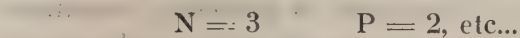
$$N = 2 \qquad P = 1$$

(sphingomyéline, aminomyéline, etc.).

4° Diaminodiphosphatides :

$$N = 2 \qquad P = 2$$

5° Triaminodiphosphatides :



D'autres auteurs préfèrent classer les phosphatides :

1° En phospholipides contenant dans leur molécule des acides gras *non saturés*; la lécithine rentre dans ce groupe. L'analyse chimique montre qu'ils contiennent de l'acide phosphorique, de la glycérine, un ou plusieurs radicaux d'acides gras non saturés (acide oléique par exemple) et un corps azoté;

2° En phospholipides contenant dans leur molécule des chaînes d'acides gras *saturés*, dont l'exemple nous est fourni par la sphingomyéline. Ce corps contient un acide gras saturé : l'acide lignocérique; des corps azotés : la sphingosine et la choline; de l'acide phosphorique, mais pas de glycérine.

Les acides glycéro-phosphoriques proviennent de la désintégration des phosphatides.

Il sera peut-être nécessaire d'établir une nouvelle classification, quand on connaîtra mieux les combinaisons des phospholipides avec les protides, les acides gras et les substances hydrocarbonées.

III. — *Phosphore glucidique.*

En 1905, Ivanoff (17) a trouvé que les extraits de levure et la levure sèche peuvent combiner du phosphore inorganique avec du sucre, pour former un éther sel organique.

En 1910, Harden et Young (18) ont trouvé dans la levure un hexose phosphate (phosphore glucidique).

Les travaux d'Embden (19) ont mis en évidence, dans le suc musculaire des animaux, une forme de phosphore liée aux hydrates de carbone : c'est le lactacidogène. Ce complexe organique se dédouble, par fermentation, à parties égales en acide lactique et en acide phosphorique. Il représente, pour Embden, la substance qui règle l'activité musculaire au cours du travail. Il subit une désintégration

au cours du travail musculaire et une **resynthèse au repos**, pour permettre au muscle de récupérer sa puissance de travail; ce serait donc le catalyseur de la contraction musculaire.

Certains auteurs (20) ont cherché à mettre en évidence le lactacidogène. En effet, le sang contient du phosphore organique que l'hydrolyse acide libère de ses combinaisons, les acides phosphoglycériques en constituent une partie. Machebœuf (21) a réussi à en extraire du sérum de cheval; il en a déduit qu'il devait y avoir un corps identique dans le sang humain, par analogie avec les phénomènes observés, comparables à ceux du sang de cheval, supposition qui s'est trouvée vérifiée par la suite.

La présence des acides hexoses phosphoriques, et en particulier du lactacidogène dans le sang, paraissait assez hypothétique, car on n'a pu isoler ces corps.

Mais, puisque le sang contient une phosphatase semblable à celle qui décompose le lactacidogène dans le suc des muscles, et qui favorise la synthèse ou la décomposition de composés phosphorés (probablement des acides hexoses phosphoriques), on peut, sans doute, comprendre la dégradation du lactacidogène du sang en étudiant la libération du phosphore minéral et de l'acide lactique. Si le sang contient un acide hexose phosphorique, sa décomposition doit libérer de l'acide lactique et de l'acide phosphorique.

Des expériences ont été faites sur du sang laqué; on n'emploie pas le sang normal, car, *in vitro*, la glycolyse y libère de l'acide lactique, d'où il résulte : 1° un arrêt de la glycolyse et de l'action synthétique de la phosphatase; 2° une forte élévation du phosphore minéral pendant les quatre premières heures qui suivent l'hémolyse.

Dans le sang laqué, la libération de l'acide lactique se fait simultanément avec celle du phosphore (comme dans le suc de presse de muscle). Mais, est-ce une raison suffisante pour affirmer que tout le phosphore libéré provient bien de la dégradation d'un seul corps, générateur également d'acide lactique? Et, en effet, d'après certaines expériences (que nous ne relatons pas, car elles nous écartent

du sujet que nous traitons), le phosphore est parfois libéré en quantité supérieure à celle prévue par le rapport

$$\frac{\text{phosphore}}{\text{acide lactique}}$$

calculé pour l'acide hexosediphosphorique.

On peut penser qu'il se produit, en même temps que la décomposition du lactacidogène, dont la présence dans le sang est malgré tout très vraisemblable, une dégradation d'un autre composé phosphoré inconnu (22).

Les recherches récentes d'Eggleton (22), de Subarrow, de Lohmann, de Lennhartz et de Fisk (23) ont mis en évidence, dans le muscle, une autre combinaison du phosphore avec la créatine (phospho-créatine, phosphagène). La notion de lactacidogène n'est plus acceptée par tous les auteurs. Ces divergences viennent sans doute des conditions différentes dans lesquelles les chimistes se sont placés pour extraire le produit du muscle.

En 1927, P. et G. Eggleton, à l'occasion de leurs travaux sur le phosphagène, estiment qu'Embsden ne pouvait pas trouver le phosphagène; il est très labile et s'hydrolyse rapidement en milieu acide, en donnant du phosphore inorganique et de l'acide lactique (24).

D'après J. Roche (25), il existerait, dans le sang, des corps phosphorés possédant un certain pouvoir réducteur. Ces corps se trouvent dans les globules rouges, et en particulier dans les hématies de certaines espèces riches en phosphore acido-soluble. Ces corps phosphorés réducteurs constituent 8 à 10 p. 100 du reste de fermentation du sang humain, et 20 p. 100 de ce même reste dans le sang de pigeon. Ils pourraient être identifiés avec l'acide adénylique ou l'acide phospho-cétotrioxadipique.

La plupart des dosages effectués jusqu'ici, où l'on s'est efforcé de séparer le phosphore organique du phosphore minéral, sont à reprendre à la suite des dernières découvertes de Lohmann et de Eggleton.

Récemment, Lohmann est arrivé à extraire du muscle un composé phosphoré qui avait été considéré jusqu'ici comme organique. Or, le sel de sodium cristallisé et puri-

fié de ce composé est un pyrophosphate, c'est-à-dire un sel exclusivement minéral.

P. Eggleton écrit : « On a constaté, dans ces deux dernières années, que la plus grande quantité du phosphore dit inorganique (du muscle) est en réalité organique, et que la plus grosse partie du lactacidogène (considérée jusqu'ici comme constituée par un phospho-glucide) est formée de phosphate inorganique. »

P. Eggleton et G.-P. Eggleton ont montré qu'une partie du phosphore, considérée comme inorganique (acide phosphorique), était en réalité organique, sous la forme d'une combinaison acide créatine-phosphorique appelée, par les Eggleton : « phosphagène ».

On a appelé « phosphore acido-soluble » ce qui passe dans le filtrat après défécation du sérum ou du sang par l'acide trichloracétique. Il n'est pas démontré que « le phosphore acido-soluble » constitue bien la somme du phosphore minéral et d'une fraction organique non précipitée par l'acide trichloracétique (glycérophosphates par exemple).

Ainsi, l'imprécision des techniques chimiques a conduit les différents auteurs qui se sont occupés du métabolisme du phosphore à des erreurs d'identification. Leurs chiffres ne sont donc, probablement, à retenir qu'avec les plus expresses réserves, et peut-être y aurait-il lieu de n'en tenir aucun compte lorsque des recherches nouvelles, poursuivies avec des techniques plus perfectionnées, auront complété leurs études.

Au point de vue physiologique, il faut ajouter, comme critiques aux recherches faites sur les « phosphates sanguins », que les prises de sang ont été faites, en général, sans tenir compte de l'état de jeûne, du travail musculaire, de l'état de fatigue du sujet, du temps qui s'écoule entre la prise de sang et le dosage du phosphore.

Tout ce qui précède montre les grandes difficultés auxquelles les biochimistes se heurtent lorsqu'ils veulent

aborder l'étude d'un élément tel que le phosphore, dont l'estimation globale est facile. La difficulté surgit lorsqu'on essaye de dissocier les différentes formes chimiques sous lesquelles il se trouve dans les humeurs ou les tissus et d'en établir la proportion relative.

CHAPITRE III.

Etude du phosphore tissulaire.

La vie protoplasmique résulte d'un équilibre entre les divers constituants de la cellule. Pour chacun des constituants, il y a une constante cellulaire, ou un indice spécifique, que l'on s'est efforcé de caractériser. C'est dans ce sens que l'on a cherché la teneur en phosphore, spécifique de chaque tissu vivant.

Il faut pouvoir analyser les tissus dans des conditions telles que l'équilibre de leurs substances phosphorées soit le même que dans l'organisme vivant et que les composés phosphorés ne soient pas détruits par les diastases agissant *post mortem*.

La notion d'indice atteindra une plus grande valeur si l'on prouve que, chez les diverses espèces animales, la valeur de l'indice se conserve, pour un même tissu, d'une façon suffisante. Il y a des différences d'individu à individu d'un même genre, par suite de l'âge et de l'état physiologique.

Pour étudier le phosphore tissulaire, les auteurs se sont adressés aux poudres organothérapiques; les résultats obtenus ne sont pas assez rigoureux, car une poudre d'organe n'est pas toujours l'image fidèle de l'organe frais; en effet, les divers traitements que subissent les organes frais, en vue de la préparation des poudres organothérapiques, peuvent altérer ou éliminer certains principes.

Les auteurs se sont attachés à la recherche de l'indice du phosphore nucléique et du phosphore lipidique.

1° INDICE DU PHOSPHORE NUCLÉIQUE.

Cet indice est la quantité de phosphore nucléique, exprimée en milligrammes, contenue dans 100 grammes de tissu sec.

On a enregistré des écarts considérables dans les teneurs en phosphore nucléique des poudres d'organes analysés, le moins riche est la moelle épinière, le plus riche est le thymus. Le tableau suivant donne une idée de la teneur en phosphore nucléique de différents organes :

Thymus.	1,25	p. 100.
Pancréas.	0,65	—
Rate et placenta.	0,43	—
Rein.	0,35	—
Ovaire.		
Surrénale.	1	—
Cœur, muscle et tissu nerveux, moins de.		

2° INDICE DU PHOSPHORE LIPIDIQUE.

Les recherches de A. Mayer et G. Schaeffer (7) prouvent que le phosphore, lié aux lipides, est une constante des tissus, caractéristique de chacun d'eux.

Plus tard, Lemeland (26) a considéré le phosphore lipidique total comme un élément de mesure des phosphatides.

En 1921, on n'avait aucune méthode d'isolement quantitatif des phosphatides permettant de les séparer individuellement et de les doser à l'état de pureté. On devait se contenter d'une évaluation indirecte de leur ensemble. C'est à cette nécessité qu'on doit l'introduction, en chimie physiologique, de la notion de phosphore lipidique total déjà étudié par Mayer, Schaeffer, Bloor (27). Il devient ainsi possible d'étudier le rôle biologique des phosphatides.

La teneur en phosphore engagé dans la molécule des lipides est assez variable; la moelle épinière en contient 1,5 p. 100, la substance cérébrale 1 p. 100, la glande surrénale 0,8 p. 100, l'hypophyse 0,8 p. 100; puis les testicules, le foie, pancréas, poumon, cœur, rein, corps jaune ont une richesse qui varie de 0,35 à 0,60 p. 100. Enfin la rate, le placenta, le thymus, le muscle contiennent moins de 0,35 p. 100 de phosphore lipidique.

Il est intéressant d'envisager la valeur du rapport $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$; les chiffres trouvés sont voisins des chiffres, et rapports physiologiques.

On a donc dosé le phosphore total de divers organes; certains d'entre eux, la moelle épinière et les testicules, sont très phosphorés; trois glandes sont également très riches en phosphore; le thymus, 2 p. 100; le pancréas, 1,7 à 2 p. 100; la surrénale, 1,4 à 2 p. 100.

Le tableau suivant indique la valeur du rapport : $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}}$ chez différents animaux (29).

	Rapport : $\frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100.$				
	CHEVAL.	PORC.	BOEUF.	VEAU.	MOUTON.
<i>Muscle.</i>	22,1	14,1	17,8	16,4	19,1
<i>Muqueuse gastrique.</i> . .	»	38	»	»	»
<i>Cœur.</i>	40,6	40,6	»	»	38,6
<i>Myocarde.</i>	»	»	35,9	»	»
<i>Sang.</i>	21,7	»	»	»	»

La notion de l'existence d'un indice du phosphore nucléaire et lipidique des tissus ayant été établie, MM. Javillier, Allaire et M^{lle} Rousseau (30) ont étudié dans quelle mesure ces indices varient avec les circonstances physiologiques (âge, alimentation, état de santé des animaux). Ils ont analysé des organismes jeunes à partir de la naissance. Les expériences ont porté sur des souris blanches et à des époques déterminées (le 21^e jour correspond à la fin de la lactation).

Ils ont constaté qu'à la naissance, l'animal est plus riche en phosphore nucléaire qu'en phosphore lipidique; la teneur du jeune animal en phosphore nucléoprotéidique, « c'est-à-dire la teneur pour cent de matière vivante de ce phosphore, dont on peut admettre qu'il est un des moyens d'expression de la masse nucléaire », baisse de la naissance jusque vers la fin de la période de lactation, puis

se relève, pour s'établir à un niveau qui restera sans doute inférieur à celui du phosphore lipidique.

« La teneur du jeune être en phosphore lipidique, qui, à la naissance, est plus faible que la teneur en phosphore nucléaire, augmente très vite pendant la première semaine, puis régulièrement pendant la période d'alimentation lactée et même jusqu'au 40^e jour. » Il est curieux de remarquer qu'à l'accroissement rapide de la teneur du jeune animal en phosphore lipidique, correspond une chute rapide, mais passagère, de la teneur en phosphore nucléaire; le tableau suivant rapporte les résultats de laboratoires.

Pour 100 grammes d'animal.

AGE.	P. Total.	P. Lipidi- que.	P. Nucléi- que.	P. minéral soluble.	P. organi- que soluble.	P. insolu- ble.
—	— mg.	— mg.	— mg.	— mg.	— mg.	— mg.
Nouveau-né.	319	39	44	24	4	207
7 jours.	358	57	41	41	2,7	216,3
14 jours.	448	62	31	36	5	314
21 jours.	478	45	35	48	12	307
30 jours.	400	76,8	42,5	39	5,5	237
46 jours.	413	76,5	43	37,5	5,5	250,5

La somme P minéral soluble + P organique soluble = P de transition. Le P insoluble représente le P insoluble dans l'alcool-éther, d'une part, et dans l'eau chlorurée, d'autre part.

Il serait intéressant de faire l'étude du phosphore tissulaire aux différents âges, et d'observer ces variations avec l'état de santé et l'alimentation.

M. et M^{me} Enselman (31) ont cherché les modalités organiques du phosphore dans la cellule cancéreuse. Ils ont dosé dans les tissus simples, dans les tumeurs bénignes et dans les tumeurs malignes, le phosphore nucléaire et le phosphore lipidique; d'après leur étude :

1° On note, dans les cancers, une augmentation du phosphore nucléaire;

2° On note également une augmentation du phosphore lipidique;

3° La radiothérapie, dans les cas cliniquement améliorés, augmente le phosphore lipidique et diminue le phosphore nucléique, en le ramenant à un taux inférieur à celui de la glande saine.

Tout se passe donc comme si le phosphore de la cellule cancéreuse se trouvait sous une forme hyperactive à l'état de nucléoprotide. Dans les cancers non traités, on trouve aussi une élévation du taux du phosphore lipidique.

3° MODE DE FORMATION DU PHOSPHORE TISSULAIRE.

On est assez mal renseigné sur cette question; on sait, de façon certaine, que les processus de destruction du phosphore organique sont en partie réversibles et que, dans l'étude des processus enzymatiques de dislocation du phosphore organique, on peut observer, dans certaines conditions de pH, des processus inverses de synthèse. Par exemple, la resynthèse du phosphagène semble se faire facilement dans le muscle en présence de créatine et d'orthophosphate, et la synthèse rapide d'éthers hexoses-phosphoriques en présence de sucre et de phosphates.

On est encore moins fixé sur la formation des phospholipides et des nucléoprotides; on soupçonne l'existence dans l'organisme d'autres formes encore inconnues.

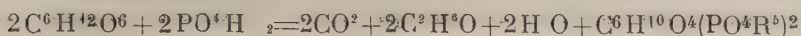
1° DESTRUCTION DU PHOSPHORE ORGANIQUE. — PHOSPHATASES.

Les physiologistes ont remarqué, surtout dans ces dernières années, l'importance des phosphatases, c'est-à-dire des ferments qui sont capables de faire l'hydrolyse des composés phosphorés avec les alcools ou leurs dérivés.

En 1905, Ivanoff (17), le premier, avait trouvé que la levure sèche peut combiner le phosphore minéral avec un saccharide, pour former un éther-sel organique de l'acide phosphorique.

Depuis, plusieurs phosphatases ont été rencontrées chez l'homme et les animaux. C'est surtout le travail sur la saccharo-phosphatase de Harden et Young (18), en 1910, qui est le plus célèbre.

D'après eux, l'action de la phosphatase de la levure s'exprime ainsi :



Les phosphatases sont faciles à étudier dans les extraits d'organes. On ajoute une fraction d'extrait ou une dilution d'organe à une solution titrée d'un composé phosphoré organique. Il suffit de doser le phosphore minéral mis en liberté, aux dépens de ses composés organiques, pour apprécier le travail du ferment.

Brain et Kay (32) désignent, sous le nom d'unité de phosphatase, la quantité de ferment qui libère 1 milligramme de phosphore d'une solution de glycéro-phosphate, en deux heures, à la température de 38° au pH = 8,9.

5° RÉPARTITION GÉNÉRALE DES PHOSPHATASES.

Les phosphatases sont très répandues dans l'organisme, dans les reins, le foie, le pancréas, le cerveau, le muscle, l'intestin, les nerfs; on en a même trouvé dans les humeurs, le sang, le liquide céphalo-rachidien, la bile, l'urine, la salive, le lait.

On les retrouve chez certains animaux : bœuf, cheval, porc.

Certaines d'entre elles sont abondantes dans le rein et les cartilages de conjugaison.

6° RÔLE PHYSIOLOGIQUE DES PHOSPHATASES.

P.-G. Kay (33), qui a fait des recherches sur la phosphatase chez l'homme normal et dans divers états pathologiques, arrive à la conclusion suivante : que la phosphatase se trouve surtout dans les os. Au niveau de ceux-ci, elle hydrolyse les sels calciques solubles des éthers-sels phosphorés, pour précipiter les phosphates calciques insolubles; par le même mécanisme, la phosphatase osseuse peut immobiliser les métaux à action toxique pour l'organisme, en produisant leur précipitation à l'état de sels insolubles dans les os. Elle jouerait donc un rôle important dans la défense de l'organisme contre certaines substances nocives.

Par contre, dans les cas pathologiques et en particulier dans les maladies osseuses avec exostoses, c'est la phosphatase qui favorise la précipitation des sels calciques là où, normalement, la substance osseuse n'existe pas. La même diastase se retrouve au niveau des dents.

Ces hypothèses ont été faites à la suite d'expériences montrant que le sel de calcium de l'acide hexose monophosphorique est attaqué par la phosphatase des tissus osseux, et qu'il laisse déposer un précipité de phosphates insolubles. De plus, le ferment des os et du cartilage est seul capable d'attaquer cet éther-sel de l'acide hexose-monophosphorique, tandis que le tissu musculaire ne peut hydrolyser que l'éther hexose-diphosphorique.

Il n'y a pas de diastase dans le cartilage; dans les cartilages en voie d'ossification, on ne la rencontre que dans les seuls centres d'ossification et, par cela même, on est conduit à admettre que la diastase joue un rôle dans les processus d'ossification (59).

Demuth (34) a dosé la phosphatase dans le sang, chez l'enfant et l'adulte. Le sérum des enfants est deux fois plus riche en phosphatase que celui des adultes; de plus, le sérum des enfants rachitiques est sept fois plus riche en phosphatase que celui des normaux.

Récemment, H.-D. Kay (35) a publié des recherches sur le dosage de la phosphatase du plasma, dans diverses maladies des os, où il a constaté une forte augmentation de la phosphatase sanguine, dépassant de vingt fois le chiffre normal. Il est permis de penser que les diastases qui attaquent les composés organiques du phosphore jouent un grand rôle dans les processus de désintégration osseuse.

En comparant la teneur en phosphatase des urines des enfants sains et des rachitiques, on n'a trouvé aucune différence, mais le liquide céphalo-rachidien des rachitiques est plus riche en phosphatase que celui des normaux.

Enfin, on a essayé l'action de l'ergostérol irradié sur la phosphatase osseuse. On a fait les expériences sur des lapins, en leur administrant des doses massives d'ergostérol

irradié, et on constate une diminution de la phosphatase osseuse. L'efficacité de l'ergostérol irradié, dans le traitement du rachitisme, tiendrait sans doute à son action sur la phosphatase des os.

On a également fait remarquer l'importance de la phosphatase du rein, dont l'effet serait d'hydrolyser les composés organiques du sang circulant, pour les éliminer dans les urines à l'état de phosphate inorganique (36). On explique l'élimination phosphorée au niveau du rein par l'entrée en jeu de différents facteurs : la teneur du plasma en phosphates minéraux; la puissance de concentration de l'organe vis-à-vis de ces sels; la concentration en ions H du sang (pouvoir tampon des phosphates). Au point de vue pathologique, l'élimination des phosphates peut être conditionnée par une modification du seuil rénal, comme on l'observe quand il y a une lésion de l'organe; et au point de vue expérimental, on sait que l'excrétion de phosphates est influencée par l'injection de sels de calcium; c'est ce qui a permis à J. Roche d'écrire que « le calcium n'est pas rigoureusement indispensable à l'activité de la phosphatase et de l'enzyme glycolytique du sang, mais il la favorise fortement » (37).

On a peut-être exagéré l'importance de la phosphatase rénale, car beaucoup d'autres phosphatases sont répandues dans l'organisme, et les composés organiques du phosphore circulant dans le sang ont pu subir l'action de ces diastases avant d'arriver aux reins.

Quoi qu'il en soit, l'existence de la phosphatase ne peut plus être mise en doute. Elle se trouve aussi bien dans le règne végétal, comme l'ont prouvé de nombreux auteurs, tels que Plimmer (38) et Nemec (39), que dans le règne animal. Les recherches concernant la répartition de cette diastase dans l'organisme humain sont encore en cours, et, malgré l'opinion négative de quelques chercheurs comme Brull (40), qui jette un doute sur la phosphatase rénale, il faut considérer le développement des idées sur cette diastase, et sur son rôle indiscutable dans la vie cellulaire, comme un grand progrès dans l'étude des processus fermentatifs qui était trop souvent négligée.

PYRÓPHOSPHATASES. — On a isolé dans un tissu une diastase décomposant les pyrophosphates de sodium, fait important, puisqu'on vient de démontrer la présence de pyrophosphates dans les divers tissus.

LÉCITHINASE. — C'est une diastase produite par les glandes surrénales; on la retrouve dans le sang de la veine surrénale et elle semble jouer un rôle dans le métabolisme de la lécithine.

GLYCÉROPHOSPHATASE. — Elle a été trouvée, chez l'homme, dans l'intestin et le rein. Les glycéro-phosphates ingérés sont désintégrés dans l'intestin, puis reformés dans l'organisme; puis une autre désintégration libère l'acide phosphorique éliminé par les urines (41).

A côté de ces ferments hydrolysants, se range un autre ferment auquel Euler (42) a donné le nom de « phosphatase ». Cette diastase, qui est encore très peu étudiée, serait capable, suivant les auteurs, de faire la resynthèse des produits de dégradation dont nous parlions plus haut. De même que la phosphatase, ce ferment agit dans des conditions qui ont été bien définies, surtout en ce qui concerne le pH. Ce serait même ce pH qui réglerait la prédominance de l'un ou l'autre de ces processus (Lawazeck) (43).

CHAPITRE IV.

Le phosphore sanguin. — Ses variations physiologiques et pathologiques et leurs répercussions sur l'élimination urinaire du phosphore.

On est mal renseigné sur l'état chimique du phosphore circulant dans le sang. Il est certain qu'il se trouve sous des formes très différentes.

Le phosphore lipidique, le phosphore protidique, le phosphore glucidique, le phosphore minéral n'ont vraisemblablement pas le même rôle physiologique; aussi, s'est-on efforcé de séparer dans le sang circulant les différentes formes du phosphore. Les récentes découvertes (pyrophosphates, phosphagène) ont montré combien sont sujettes à caution les anciennes données sur le phosphore dit « organique » et le phosphore « inorganique ».

On a appelé « phosphatémie » la teneur du sang en phosphates. Porte (44) a constaté que le sérum et le plasma ont sensiblement la même teneur en phosphates. La répartition du phosphore sanguin entre le plasma et les globules est assez bien connue aujourd'hui. Il y a peu de phosphates dans le sérum et le plasma; c'est, au contraire, dans les globules rouges qu'on en trouve le plus. Porte a trouvé que les globules en contiennent plus que le sang total; à volume égal, les globules blancs sont les éléments qui, pour les mêmes proportions, renferment le plus de phosphates et sont beaucoup plus riches que les globules rouges.

A l'état normal, la teneur en phosphore du sang total est en moyenne de 1 gr. 30 par litre, évaluée en $P^{25} O^5$. Elle reste normale tant que la maladie n'a pas modifié le taux ordinaire en globules du sang. La phosphatémie est donc sous la dépendance du nombre des globules rouges, et, dans les affections où les phosphates du sang sont diminués, elle est abaissée. On trouvera une élévation du taux du phosphore lorsque les globules blancs, riches en nu-

cléines et par conséquent en phosphore, seront augmentées, comme on peut l'observer dans les leucémies; dans ces cas, la diminution du phosphore des globules est compensée par un excès de phosphates provenant des leucocytes.

Ces faits invitent, lorsqu'on voudra étudier la phosphatémie, à tenir compte des formules rouges et blanches du sang; en outre, le problème de la phosphatémie doit être envisagé en considérant le phosphore sous sa forme minérale et sous sa forme organique, c'est-à-dire protidique, lipidique et glucidique.

Toutes les valeurs de phosphore du sang données par les anciens auteurs expriment, en général, le phosphore total et sont variables d'un auteur à l'autre; cela dépend probablement des techniques employées; c'est ainsi que :

Schmidt (1860) a trouvé par litre de sang (45) :

Phosphate disodique.	0,09062
Phosphate dipotassique.	0,49042
Phosphate de chaux.	0,07967
Phosphate de magnésie.	0,03954

En $P^2 O^5$ 0,30025

A. Jarisch (46) (1875) a dosé par litre 9,69, Henneberg 0,89, Verdeuil 0,74; Porte (1914), d'après la méthode de M. Deniges, a trouvé 1 gr. 285. D'après ces auteurs, on peut conclure que le taux du phosphore minéral, par litre de sang, varie presque du simple au double.

Dans le plasma, Schmidt a trouvé par litre :

Phosphate disodique.	0,05374
Phosphate de chaux.	0,12301
Phosphate de magnésie.	0,06292

En $P^2 O^5$ 0,23967

D'après Porte, un litre de plasma contient 0 gr. 11 de phosphore en $P^2 O^5$.

Dans le sérum : Schmidt a dosé 0 gr. 31; Hammersten, 0 gr. 14; Porte, 0 gr. 117.

Avec des techniques plus récentes, Wigglesworth, Woodrow, Bell et Doisy (47), Brain, Kay, Marshall, etc., ont trouvé que le phosphore minéral du sang total varie entre 25 et 40 milligrammes par litre. On pense qu'à l'état normal, le phosphore est réparti également entre le plasma et les globules; mais, si le taux du phosphore inorganique augmente, c'est le plasma qui en contient le plus (Wigglesworth et Woodrow).

Cette opinion n'est pas partagée par Richter Quittner et Brull, qui pensent que les globules ne contiennent pas de phosphore minéral, tandis que Bloor, Joung, Jones et Kay admettent que les globules sont plus riches en phosphore que le plasma.

D'après Brain, Kay et Marshall, qui ont utilisé la méthode colorimétrique de Bell et Doisy, modifiée par Briggs, les teneurs moyennes du phosphore minéral sont :

1° Dans le sang.	39 milligr.	p. 1.000.
2° Dans le plasma.	45	— —
3° Dans les globules.	33	— —

exprimées en P.

Ces chiffres ne présentent qu'un intérêt relatif, car ils n'indiquent pas le taux du phosphore protidique, lipidique (sauf en ce qui concerne la lécithine) ou glucidique dans le sang.

On a trouvé que, dans le sérum et les hématies, il n'existe que du phosphore lipidique et acido-soluble, ce dernier comprenant des composés phospho-organiques dans la proportion de 13 à 26 p. 100 dans le sérum, et de 89 à 97 p. 100 dans les globules rouges. On met ainsi en doute la présence des nucléines dans le sang, et on affirme l'existence de composés organiques autres que la lécithine, ce qui est en désaccord avec les analyses antérieures d'Abderhalden.

Pour Posternak (48), le sérum ne contiendrait pas de phosphore insoluble et, par conséquent, de nucléine, en dehors du phosphore lipidique; il ne contient pas de quantité sensible de phosphore en combinaison organique, les

observations contraires de Greenwald et de Bloor étant attribuables à l'imperfection de la méthode néphélométrique.

Les hématies contiennent, par contre, du phosphore organique de 6 à 11 p. 100 (globules de Mouton). La nucléine en constitue probablement une faible partie, les globules rouges examinés n'étant pas exempts de leucocytes. La richesse des hématies en phosphore organique soluble est remarquable : 61,09 p. 100 du phosphore total chez le Cheval, et 47,85 p. 100 chez le Chien. D'ailleurs, en se reportant aux tableaux suivants, on se rendra mieux compte des résultats obtenus par Posternak (48).

RÉPARTITION DU PHOSPHORE DANS LE SANG.

	DANS 1 LITRE DE SÉRUM.		DANS 1 LITRE D'HÉMATIES.	
	P. en milligr.	P. % du P. total.	P. en milligr.	P. % du P. total.
CHEVAL :				
P. total.	74,12	»	559,30	»
P. de l'extrait éthéré. .	42,16	56,88	107,74	19,26
P. de l'extrait alcoolique (insoluble dans l'éther).	4,48	6,04	13,72	2,45
P. minéral.	24,64	37,29	64,30	11,49
P. organique soluble. .	Néant.	Néant.	Néant.	Néant.
TOTAL.		100,21		100
CHIEN :				
P. total.	130,80	»	557,34	»
P. de l'extrait éthéré. .	88,40	67,63	120,36	21,59
P. de l'extrait alcoolique (insoluble dans l'éther).	3,55	2,71	11,82	2,12
P. minéral.	38,88	29,72	119,72	21,48
P. organique soluble. .	Néant.	Néant.	266,70	47,85
P. insoluble (par différence).	Néant.	Néant.	38,74	6,96
TOTAL.		100,06		100

VARIATIONS EXPÉRIMENTALES DE LA PHOSPHATÉMIE.

1° *Influence du travail musculaire.*

D'après Embden (49), on peut constater la diminution du lactacidogène après le travail musculaire, alors que sa synthèse se fait pendant le repos du muscle. Donc, outre les hydrates de carbone, c'est le phosphore qui est à la base de la contraction musculaire, ainsi que le prouvent les expériences d'Embden sur l'ingestion du phosphore qui augmente l'activité musculaire.

Des expériences ont été poursuivies sur des Chiens. Certains d'entre eux sont soumis au jeûne pendant quarante-huit heures, pour épuiser leurs réserves en glycogène; puis on impose à ces chiens des exercices violents. Un dosage du sang consécutif à cette fatigue musculaire décèle que la teneur en phosphore minéral et acido-soluble baisse temporairement dans le sang; si l'on persiste à faire travailler ces animaux, les phosphates sanguins remontent à un taux normal. Un dosage, fait pendant la période de repos intermédiaire, montre qu'il se produit à ce moment une hyperphosphatémie très sensible, dépassant de 60 p. 100 la normale.

2° *Influence de l'adrénaline.*

Tout récemment, H.-H. Barrenschcen, A. Eisler et L. Popper (50) ont constaté que l'injection intraveineuse d'adrénaline, aussi bien chez le Lapin que chez l'Homme, abaisse le phosphore minéral dans le sang et diminue l'excrétion des phosphates dans l'urine.

On a même admis que l'adrénaline augmente l'excrétion du phosphore par l'intestin; ou encore, que le phosphore sanguin, sous l'influence des injections d'adrénaline, disparaît du sang pour former, dans les muscles ou dans les organes, des combinaisons phosphorées organiques et en particulier du lactacidogène.

Des expériences faites chez l'Homme normal et dans quelques états pathologiques ont montré, dans la plupart

des cas, que le taux du phosphore total ne change pas. Celui du phosphore minéral est, par contre, abaissé d'une façon constante. L'adrénaline semble n'avoir aucune influence sur la teneur en phosphore lipidique du sang, mais le phosphore organique non lipidique subit une augmentation.

Il ressort de ces expériences, que les injections intra-veineuses d'adrénaline n'abaissent pas le taux du phosphore total du sang, fait qui vient à l'appui de la théorie d'après laquelle l'adrénaline provoque le passage d'une partie du phosphore sanguin hors du courant circulatoire. Donc, l'abaissement du taux du phosphore minéral coïncide avec l'élévation du taux du phosphore organique, et c'est ainsi que le phosphore total reste invariable.

3° Influence de l'insuline.

L'injection d'insuline, chez l'animal, détermine une chute du phosphore minéral dans le sang. Le phosphore qui disparaît du sang passerait dans les muscles, où il contribuerait à former le phosphagène ou le lactacidogène.

On pourrait croire que les phosphates, diminuant dans le sang, sont éliminés par les urines; il n'en est rien, et, au contraire, le taux du phosphore urinaire est également abaissé. De plus, après injection d'insuline, le sang artériel est plus riche en phosphore que le sang veineux (51) et le lactacidogène augmente. La chute du glucose et du phosphore minéral sanguin, sous l'influence de l'insuline, se reliait au processus présidant à la formation d'un hydrate de carbone fixe au niveau du muscle, sans doute un hexose phosphate précurseur du glycogène. Ainsi, l'insuline est un réactif précieux pour étudier le métabolisme des glucides, mais les auteurs ne sont pas d'accord sur son mode d'action.

a) L'école anglaise a montré que le sang normal contient un glucose à pouvoir rotatoire plus faible que le glucose ordinaire; elle l'a appelé : le néoglucose; il est très labile et utilisable. Le sang des diabétiques semble, au contraire, contenir du glucose banal, inutilisable et stable.

La transformation du glucose ordinaire en néoglucose se ferait sous l'influence combinée de l'insuline et d'une diastase musculaire.

b) L'école allemande a montré, d'autre part, que le glucose se polymérise au niveau des muscles, puis se combine à l'acide phosphorique, pour donner un éther hexose-phosphorique : le lactacidogène qui, plus tard, se transforme en acide lactique et acide phosphorique. Cette transformation contribue à fournir l'énergie nécessaire à la contraction musculaire.

L'insuline semble agir nettement sur la synthèse de l'acide phosphorique et du glycogène, mais plusieurs hypothèses semblent possibles :

Certains auteurs croient qu'elle agit, au contraire, sur la dissociation du lactacidogène en acides lactique et phosphorique.

Pour d'autres, elle agirait à la fois sur la synthèse et la dissociation.

Enfin, elle pourrait intervenir dans l'élaboration d'une substance intermédiaire, soit en se polymérisant, soit en se combinant.

4° Influence du glucose.

L'introduction du glucose dans l'organisme par voie digestive ou intraveineuse diminue la phosphatémie.

Le phosphore minéral doit, vraisemblablement, se combiner avec le glucose, pour produire un hexose-phosphate. Cependant les expériences ne sont pas concluantes. Embden n'a pas obtenu une augmentation d'acide lactique en ajoutant du glucose à une purée de muscle contenant du lactacidogène, alors que l'acide lactique augmente toujours, quand on ajoute à la purée musculaire un hexose-phosphate.

5° Influence des phosphates minéraux.

Quand on fait ingérer du phosphore minéral, on détermine une élévation du taux du phosphore sanguin et une élimination plus forte du phosphore urinaire.

Les rapports entre l'administration de phosphore minéral et la glycémie ont été étudiés; on a constaté que l'injection de phosphate déterminait l'abaissement du sucre du sang chez les hyperglycémiques (chez les diabétiques ou après ingestion de glucose), alors qu'on n'observe pas ce phénomène dans les cas de glycémie normale.

6° Phosphatases et équilibre acido-basique.

Il est établi que les phosphatases jouent dans le sang le rôle de corps tampons.

Mais, après les bicarbonates, leur rôle est forcément restreint. MM. P. Portier et M. Duval (52) ont étudié le rôle des phosphates comme substances tampons dans le sang des Invertébrés. Chez un certain nombre d'Insectes (*Dysiticus marginalis*, *Attacus pernyi*, *Cossus-cossus*) la mesure de la réserve alcaline par la méthode de Van Slyke montre que le sang de ces animaux est très pauvre en bicarbonates (parfois moins de 10 vol. de CO_2 p. 100 centimètres cubes de sang); cependant, le pH de ces sangs est fortement tamponné. Ce sont les phosphates qui assurent le rôle de tampons chez ces animaux, car leur sang contient une quantité considérable de phosphates minéraux par litre, entre 105 et 155 milligrammes de phosphore minéral. Chez d'autres Invertébrés (Mollusques et Crustacés), dont le sang est riche en bicarbonates (30 à 75 volumes de CO_2 p. 100 centimètres cubes de sang), le phosphore minéral se maintient entre 1 et 8 milligrammes par litre. Cela prouve qu'il existe un balancement entre les carbonates et les phosphates du sang des Invertébrés et que, chez certains de ces animaux, les phosphates jouent un rôle important dans le maintien de l'équilibre acido-basique et peuvent remplacer des bicarbonates.

Le tableau suivant illustre d'une façon nette ce balancement entre les phosphates et les bicarbonates.

	P. min. % de sang en mgr.	CO ₂ en cc. % de sang.
INSECTES:		
<i>Dysticus marginalis</i> (adulte).	105	} Moins de 10.
<i>Attacus pernyi</i> (chenille).	120	
<i>Cossus-cossus</i> (chenille).	115	

MOLLUSQUES.

	3	} 50
<i>Helix pomatia</i>	2,3	
	1,9	} 40 à 60
<i>Lymnaea stagnalis</i>	3,9	
<i>Planorbis corneus</i>	2,8	

CRUSTACÉS.

<i>Astacus fluviatilis</i>	8	30
--------------------------------------	---	----

ÉLIMINATION RÉNALE DU PHOSPHORE.

Dans l'étude du phosphore urinaire, il y a deux questions qu'il faut séparer complètement :

- 1° L'état des phosphates dans les urines;
- 2° La quantité totale du phosphore éliminé.

1° Les états du phosphore urinaire.

Les phosphates, sels de l'acide phosphorique PO^3H^3 , peuvent être de trois sortes. L'acide phosphorique possède 3 atomes H remplaçables par 1, 2 ou 3 atomes de base. Une base monovalente X peut donner PO^3X^3 phosphate tribasique, PO^3HX^2 phosphate neutre ou bibasique et $\text{PO}^3\text{H}^2\text{X}$ phosphate acide ou monobasique.

Les phosphates tribasiques n'existent ni dans le sang, ni dans l'urine; ils ne peuvent se constituer qu'avec le concours d'une alcalinité qui n'est jamais atteinte à l'état physiologique.

L'urine contient, à l'état normal, à la fois des phosphates

alcalins et alcalino-terreux. Les deux tiers sont représentés par des phosphates alcalins ($K Na NH^3$), l'autre tiers est constitué par des phosphates liés à des bases alcalino-terreuses ($CaO-MgO$). Les rapports entre ces différents phosphates sont régis par des lois physiques d'équilibre acido-basique et des lois chimiques de combinaison insoluble en relation avec la quantité de calcium urinaire et avec la concentration en ions H de l'urine.

Avec un pH 4,4, presque tout l'acide phosphorique est à l'état monométallique.

Avec un pH 8, tout l'acide phosphorique est à l'état bimétallique.

Entre ces deux pH extrêmes, il y a des proportions variables monométalliques, tout au moins en ce qui concerne les phosphates alcalins.

Quant aux phosphates alcalino-terreux, leur état dans l'urine varie à la fois suivant l'équilibre acido-basique et la quantité de calcium.

Quand l'urine est alcaline ou hypoacide $pH < 6$, il se produit un précipité de phosphate bicalcique. Quand les urines ont un pH égal à 6, elles sont dans la zone où la précipitation est possible, et le moindre excès de calcium dans les urines entraîne la précipitation du phosphate bicalcique.

Quand le pH s'élève au-dessus de 6,7, il y a prédominance de phosphate bimétallique et tendance nette à la précipitation du phosphate bicalcique.

Le régime a également une influence. Avec un régime riche en calcium, il passe plus de phosphore par l'intestin qu'avec un régime pauvre.

Une très faible fraction du phosphore urinaire est représentée par du phosphore organique. D'après Gertel, à l'état normal, 50 milligrammes du phosphore organique sont éliminés contre 2 grammes de phosphates minéraux en $P^2 O^5$. Fleury et Sutu (53) trouvent 10 à 20 milligrammes de phosphore organique en $P^2 O^5$ par litre d'urine. Dans les cas pathologiques, ils n'ont trouvé d'augmentation sensible que dans les cas de tuberculose pulmonaire.

2° *Quantité totale du phosphore de l'urine.*

La quantité totale du phosphore urinaire varie avec le régime acidifiant ou alcalinisant, sa composition végétale ou carnée, les apports phosphorés, régime pauvre ou riche en calcium. D'après Lambling (54), chez le carnivore, l'élimination se fait surtout par voie rénale, et chez l'herbivore par voie fécale. Selon Gyorgy (55), les phosphates urinaires proviennent du rein, et ils résultent du processus d'autolyse rénale; pour Jost (56), ils viennent des globules dont les glycérophosphates sont désintégrés par les reins. Pour Brain, Kay et Marshall (57), l'origine des phosphates urinaires est double : ils proviennent et du tissu rénal et du phosphore inorganique du plasma.

Quand l'organisme tend à s'acidifier, le rein sépare les radicaux d'acide faible de leurs bases, les rejette dans l'urine et retient les bases qui protègent la réserve alcaline du sang. Cette dissociation peut se faire aussi bien sur les sels d'acides organiques que sur les phosphates; cependant, ce sont ces derniers qui ont le premier rôle dans la régulation rénale de l'équilibre acide-base.

L'urine n'est pas la seule voie d'élimination des phosphates : les matières fécales en contiennent également, provenant de résidus alimentaires, débris de l'épithélium intestinal, sucs digestifs, produits bactériens.

L'homme normal élimine 65 à 70 p. 100 de phosphore dans l'urine, et le reste avec les fèces. L'élimination rénale, chez l'homme normal, est de 2 grammes à 3 gr. 5 exprimés en $P^2 O^5$ par vingt-quatre heures; ou de 2 grammes à 2 gr. 5 en $P^2 O^5$ par litre. Tous ces chiffres sont d'ailleurs assez relatifs.

*
* *

PHOSPHATURIE APPARENTE.

Elle se traduit par l'émission d'urines troubles, d'aspect lactescent dû à la précipitation de phosphates urinaires. Cela s'observe dans les urines alcalines. Il est bien connu que, lorsque l'urine est alcaline, il se produit un précipité des phosphates bicalciques, puisque, dans l'urine

alcaline, ce sont bien les phosphates bicalciques qui l'emportent sur les monobasiques. Or, le phosphate monobasique est soluble dans l'eau, alors que le phosphate bicalcique est presque insoluble. Quand les urines sont normalement acides (pH 6), le phosphate monobasique l'emporte sur la quantité de phosphate bicalcique, assez faible pour rester en solution. Si l'alcalinité augmente, la concentration du phosphate bicalcique devient telle que la précipitation se produit, et les urines deviennent lactescentes.

Cette phosphaturie apparente s'accompagne parfois de malaise, de lassitude. Ce trouble urinaire se rencontre souvent chez des gens dont le régime comporte beaucoup de légumes, fruits ou autres aliments alcalinisants; mais ce n'est pas une raison suffisante pour penser que ce phénomène est en rapport avec la quantité de phosphore ingéré.

La réaction des urines dépend donc de celle des humeurs de l'organisme; on a pensé que l'« hyperalcalinité urinaire traduit un état d'alcalose humorale et qu'elle représente le moyen mis en œuvre par l'organisme pour se défendre contre l'excès des bases, en les rejetant dans les urines, de façon à maintenir l'équilibre acido-basique indispensable à la vie » (58).

CHAPITRE IV.

Historique des techniques.

Avant d'aborder l'exposé de la méthode employée dans ce Mémoire, nous allons faire un résumé rapide des méthodes de détermination du phosphore applicables aux humeurs et aux tissus.

On peut les classer en quatre groupes :

Méthodes gravimétriques;

Méthodes volumétriques;

Méthodes colorimétriques;

Méthodes opacimétriques.

I. — MÉTHODES GRAVIMÉTRIQUES.

Dans les méthodes gravimétriques, le phosphore est engagé dans une combinaison insoluble que l'on pèse ensuite directement, ou après une transformation appropriée.

Ces méthodes peuvent servir au dosage des petites quantités de phosphore et deviennent des micro-méthodes. Leur précision est d'autant plus parfaite que le précipité est plus insoluble dans le milieu de combinaison et que le poids du corps à peser est plus grand par rapport à la quantité du phosphore à doser.

A. — La méthode classique, par pesée de pyrophosphate de magnésium $P^2O^7Mg^2$, est peu exacte comme micro-méthode. En effet, l'insolubilité du phosphate ammoniaco-magnésien n'est pas totale, même en milieu très ammoniacal.

B. — Une autre méthode consiste à précipiter le phosphore sous forme de phosphomolybdate d'ammonium et pesée du phosphomolybdate hydraté ou anhydre, ou de l'anhydride phosphomolybdique.

L'inconvénient de cette méthode est que la composition du phosphomolybdate d'ammonium n'est pas toujours la même.

Ce sel est un mélange en proportions variables de phosphomolybdates di et triammoniacal, suivant la richesse de la liqueur molybdique en ammonium et la durée de la précipitation.

Cependant, quand on travaille dans des conditions bien définies, cette méthode donne d'assez bons résultats [Dhéré Maurice (68), May (69)].

C. — Méthode d'Embden (70). L'isolement des petites quantités de phosphore peut être réalisé par la précipitation d'un sel insoluble de l'acide phosphomolybdique. On a employé les phosphomolybdates d'ammonium et de strychnine. L'emploi de la strychnine est préférable à celui de l'ammoniaque; grâce à elle, on obtient un sel de strychnine de poids moléculaire plus élevé qu'avec l'ammoniaque et, en outre, il se forme des flocons lourds, n'adhérant pas aux parois des vases à précipiter et faciles à centrifuger.

Quand on ajoute à une solution contenant l'ion PO_4^3 , de l'acide nitrique, du molybdate d'ammoniaque et du nitrate de strychnine en solution aqueuse, il se forme du phosphomolybdate de strychnine. Embden chercha à baser le dosage du phosphore sur l'isolement et la pesée du phosphomolybdate de strychnine. Cette technique ne peut pas être employée au dosage de quantités inférieures à 1 milligramme de phosphore.

Pour éviter cet inconvénient, Myrbäch substitue à la pesée un titrage acidimétrique.

D. — Méthode Posternack. Dans cette méthode, on dose le phosphore à l'état de phosphomolybdate de baryum, en précipitant au préalable le sel d'ammonium correspondant en milieu sulfurique ou azotique.

Pour tous les dosages du phosphore en l'absence de matières organiques, on opère à chaud, en milieu sulfurique, et avec une solution de molybdate d'ammonium à 10 p. 100. On obtient un précipité de phospho-sulfo-molybdate de baryum.

Les sels barytiques complexes se prêtent, grâce à leur poids moléculaire considérable et leur composition constante, au dosage pondéral de quantités de phosphore de l'ordre du milligramme.

Le dosage des phosphates minéraux en présence des composés organiques du phosphore se fait à froid, par la liqueur molybdique ordinaire, dans un milieu contenant au moins 5 p. 100 de nitrate d'ammonium. On recueille, dans ce cas, un précipité de phosphomolybdate de baryum; le nitrate de baryum, soluble dans l'eau, n'entre pas dans la constitution du précipité.

Jusqu'alors, cette méthode a été considérée comme la meilleure parmi les méthodes gravimétriques (71).

E. — La méthode de Copaux (73) est basée sur le principe suivant : quand on ajoute à de l'acide phosphorique un autre acide minéral (chlorhydrique ou sulfurique) et qu'on agite le mélange avec de l'éther et un molybdate alcalin, il se forme de l'acide phosphomolybdique, qui s'unit à l'éther et à l'eau en un liquide jaune, dense, non miscible à son eau mère, et séparable par centrifugation.

L'équilibre établi, on a trois couches : un excès d'éther, la solution aqueuse, la liqueur phosphomolybdique jaune.

L'acide phosphomolybdique sort presque intégralement de sa dissolution aqueuse, à l'état de liquide jaune, pourvu que le milieu soit suffisamment acide et toujours saturé d'éther.

La composition du liquide est assez constante pour qu'on puisse fonder un dosage sur la mesure de son volume. Son poids spécifique étant 1,23 à 20° et sa teneur moyenne en P^2O^5 , 1,73 p. 100, on calcule aisément que 1 milligramme de P^2O^5 doit occuper environ $\frac{1}{20}$ de centimètre cube. Pour plus de rigueur, on procède par comparaison avec une solution type de phosphate pur.

En résumé, ces méthodes, à l'exception de celle de Copaux, sont d'une manipulation délicate et longue, cela explique les raisons pour lesquelles on leur préfère les méthodes volumétriques.

H. — MÉTHODES VOLUMÉTRIQUES.

A. — La méthode classique de précipitation de l'acide phosphorique à l'état de phosphate d'urane n'est applicable qu'en présence d'une grande quantité de liquide.

B. — La précipitation peut encore se faire à l'état de phosphate triargentique. On dissout ce précipité dans l'acide nitrique et on dose par volumétrie l'argent dans la liqueur nitrique, avec le sulfocyanure d'ammonium (Le Guyon) (75).

C. — Les autres méthodes ont pour base la précipitation de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate d'ammonium. On ramène ainsi le dosage du phosphore au microdosage de l'ammoniac, qui se trouve dans ce précipité. J. Clarens (76) opère la précipitation en présence de quantités suffisantes de nitrate d'ammonium et en lavant ensuite à l'eau distillée, qui ne dissout pas le précipité. Le dosage de l'acide phosphorique est ainsi ramené à un dosage d'ammoniaque, en dissolvant le précipité nitro-phosphomolybdique dans la potasse.

M^{me} Sörensen (77) chasse l'ammoniaque par de la soude titrée dont on détermine l'excès. Machebeuf (78) a apporté des perfectionnements qui rendent cette méthode assez pratique. Il fait une destruction sulfonitrique des matières organiques et ajoute, en fin d'opération, du permanganate de potassium, pour rendre le liquide parfaitement incolore. Le liquide est précipité par le molybdate d'ammonium en présence de nitrate d'ammonium. Il filtre avec l'appareil de Pregl. Au filtrat, il ajoute de la soude en excès, qu'il titre en présence de phénolphtaléine.

Les modifications qu'il apporta à la technique de M^{me} Sörensen ne portèrent que sur les détails de manipulation. En premier lieu sur la filtration. Il remplaça les filtres de papier par des filtres d'amiante. Ensuite, il ajouta de l'alcool aux eaux mères, pour abaisser leur tension superficielle et, de cette façon, empêcher les pertes par ascension du précipité le long des parois. Enfin, la troisième modifi-

cation porta sur le mode d'amorçage des ébullitions, grâce à l'introduction d'une cloche capillaire obtenue en brisant un fragment de tube de verre fin et obstrué à son extrémité par contact avec la flamme.

D. — 1. Myrbäck (70) apporte une modification à la méthode d'Emden. Il substitue à la pesée un titrage acidimétrique. Si l'on traite du phosphomolybdate d'ammoniaque par un excès de soude, il se forme du phosphate d'ammoniaque et des molybdates d'ammoniaque et de soude. Un excès de soude déplace l'ammoniaque de ses sels et on l'élimine par ébullition. La quantité de soude neutralisée, déterminée par un titrage alcalimétrique, est proportionnelle à la quantité de phosphomolybdate et, par conséquent, de phosphore.

Ce titrage peut être fait sur un précipité de phosphomolybdate de strychnine, mais on n'élimine pas l'alkaloïde, en opérant en présence de phénolphtaléine; la strychnine n'intervient pas dans la titration.

2. Au lieu de titrer l'ammoniaque du précipité de phosphomolybdate d'ammonium, on peut doser le molybdène de ce précipité, et ramener le dosage du phosphore à un dosage de molybdène; il est ici sous forme de MoO^3 , très sensible aux agents de réduction; on le ramène à l'état de sous-oxyde dont la réoxydation, par une solution titrée de permanganate de potassium, apporte le principe même d'un dosage volumétrique du molybdène [Pisani (80)].

Denigès (81) apporta des perfectionnements à cette méthode, en remplaçant, pour la réduction, le zinc par des feuilles d'aluminium. On obtient ainsi un sous-oxyde constant qui serait Mo^2O^3 tandis que, par le zinc, le produit de réduction n'est pas toujours constant dans sa composition.

E. — Javillier et Djélatidès (84) se servirent de ces anciennes données pour élaborer une nouvelle méthode volumétrique. Le phosphore est précipité à l'état de phosphomolybdate d'ammonium à chaud, en milieu sulfurique et en l'absence d'acide nitrique. Le précipité est dissous dans de l'ammoniaque et on fait la réduction avec une feuille d'aluminium en milieu sulfurique.

Le dosage est ramené à un titrage du molybdène par réoxydation de son sous-oxyde au moyen du permanganate de potassium.

III. — MÉTHODES COLORIMÉTRIQUES.

Elles ont été élaborées dans le but de doser de faibles quantités de phosphore, dans le sang en particulier, elles exigent de travailler dans les mêmes conditions de réactifs pour la solution étalon et la solution à doser.

A. — Dans la méthode céruléomolybdique de Denigès (82), on emploie la réduction de l'acide phosphomolybdique par le chlorure-stanneux, avec formation d'un phosphoconjugué molybdénique de couleur bleue.

B. — Tisdall (85) précipite le phosphore à l'état de phosphomolybdate de strychnine et réduit celui-ci par le ferrocyanure, avec production d'une coloration verte.

C. — La méthode de Bell-Doisy (86), modifiée par Briggs (87), est basée sur la réduction du phosphomolybdate d'ammonium par l'hydroquinone, avec obtention d'une couleur bleue. Cette méthode est employée avec succès pour doser de petites quantités de phosphore dans le sang et le plasma.

IV. — MÉTHODES OPACIMÉTRIQUES.

Enfin, on a proposé d'apprécier la teneur des liquides biologiques en phosphore, par mesure de la densité optique.

A. — Pouget et Chouchak (88), ayant remarqué que l'acide phosphomolybdique est un réactif très sensible des alcaloïdes, utilisèrent cette réaction pour doser l'acide phosphorique; à une solution diluée d'acide phosphorique contenant quelques dixièmes de milligrammes de P^2O^5 par litre, si l'on ajoute une solution de molybdate de sodium, de l'acide azotique, puis quelques centimètres cubes d'une solution étendue d'un alcaloïde, il se forme un trouble dû à la précipitation d'un phosphomolybdate d'alcaloïde. La couleur, l'intensité du trouble dépendent de l'alcaloïde employé, qui dans ce cas est la strychnine.

Ils ont signalé que le mélange de nitrate de strychnine et de solution molybdonitrique subit à l'air une altération le rendant impropre au dosage. Cette altération est probablement une oxydation, se traduisant par une coloration jaune intense. On a pensé que les oxydants pouvaient gêner le dosage; en effet, l'addition de minimes quantités d'eau oxygénée détermine un virage immédiat au jaune foncé du réactif, et la précipitation du phosphomolybdate de strychnine n'est plus complète.

B. — Denigès (83) emploie le même alcaloïde et précipite l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate de strychnine. L'intensité du trouble est appréciée à l'aide de témoins.

Ces méthodes peuvent rendre des services, à la condition d'être mises en œuvre sans faire intervenir de coloration étrangère au corps à doser et qu'elles ne produisent pas de trouble par le réactif employé. En outre, elles supportent toujours la critique de l'équation personnelle dans la lecture des mesures colorimétriques.

CHAPITRE VI.

Méthodes employées dans ce travail.

Dans le chapitre précédent, nous avons passé en revue rapidement les techniques proposées par les auteurs depuis 1908. Ces techniques ne semblent pas pouvoir s'appliquer facilement à l'étude du phosphore du sang sous ses différentes formes chimiques, car il faut employer de grandes quantités de sang; aussi avons-nous profité de la publication d'une méthode récente de MM. Javillier et Fabrykant, qui présente l'avantage d'opérer sur de petites quantités de sang, et nous avons pensé que son emploi pouvait se généraliser en pathologie. Mais, comme il convient, nous avons tenu à nous rendre compte de la valeur de leur technique. Ce sont les résultats de ces vérifications que nous exposons dans ce chapitre.

Si l'on se rapporte aux chiffres de phosphore du sang publiés par les auteurs, on se rend compte que le phosphore est envisagé sous sa forme minérale et sous sa forme acido-soluble. Cette classification est nettement insuffisante et, pour connaître les formes chimiques du phosphore sanguin, il faut envisager le problème comme MM. Javillier et Fabrykant l'ont fait.

On peut ainsi déterminer la quantité de phosphore à l'état minéral et celle de phosphore engagé dans les molécules protidiques, lipidiques et glucidiques.

EXPOSÉ DES TECHNIQUES EMPLOYÉES.

I. — *Technique de Javillier et Fabrykant.*

1° PRÉLÈVEMENT DU SANG. — La prise de sang est faite par ponction veineuse chez le sujet à jeun depuis au moins douze heures et après repos d'une demi-heure. Nous attachons une grande importance à ces prescriptions. Il nous semble, en effet, que certains résultats discordants sont

due à ce que les auteurs n'ont pas adopté un mode de prélèvement du sang judicieux et uniforme. Le sang est recueilli dans un flacon contenant quelques centigrammes de fluorure de sodium. Un prélèvement de 15 centimètres cubes suffit quand nous ne faisons pas le dosage du phosphore nucléoprotéidique. Ce dernier nécessite, à lui seul, environ 40 centimètres cubes de sang.

2° DOSAGE DU PHOSPHORE TOTAL. — *Principe.* — Après une destruction sulfo-nitrique, on dose le phosphore dans la liqueur de minéralisation par la méthode de M. Copaux.

La minéralisation s'effectue sur 3 à 5 centimètres cubes de sang. La prise d'essai est soumise, dans un petit matras de Kjeldahl, à la destruction sulfo-nitrique pratiquée avec les précautions classiques, afin d'éviter toute perte d'acide phosphorique. La destruction réalisée, on reprend avec 30 centimètres cubes d'eau distillée et l'on porte à l'ébullition, que l'on maintient jusqu'à concentration de la liqueur à près de moitié.

Nous dosons l'acide phosphorique de la liqueur en appliquant la méthode de M. Copaux, que l'un de nous a généralisée dans ses recherches de chimie physiologique, et qui rend les plus réels services par sa rapidité d'exécution et son exactitude suffisante. Nous utilisons les ampoules divisées en quatre-vingtièmes de centimètre cube et préalablement vérifiées au point de vue de la correspondance entre les graduations et les doses d'acide phosphorique. Le résultat est exprimé en phosphore.

3° DOSAGE DU PHOSPHORE LIPOÏDIQUE. — *Principe.* — Le sang est au préalable stabilisé avec de l'alcool. On filtre; la liqueur alcoolique est distillée; le précipité est desséché, puis on épuise la matière par lixiviation à l'alcool et à l'éther. On distille ces liquides d'extraction. Le résidu est repris par de l'éther et du benzène anhydre. On distille la liqueur éthéro-benzénique. Le résidu, après minéralisation, sert au dosage du phosphore lipidique par la méthode de M. Copaux.

A l'aide d'une pipette, on prélève, dès la prise de sang effectuée, 10 centimètres cubes de celui-ci, que l'on verse

goutte à goutte et en agitant, dans un matras de 500 centimètres cubes contenant environ 200 centimètres cubes d'alcool à 96°. On met le matras au bain-marie en relation avec un réfrigérant à reflux; on stabilise le sang en portant la liqueur à l'ébullition et l'y maintenant vingt minutes. Le liquide, après refroidissement, est jeté, avec la matière finement coagulée, sur un disque de papier filtrant d'un entonnoir de Buchner.

Le précipité, essoré, est rapidement lavé à l'alcool. Le liquide filtré est mis de côté et la matière est transférée — sans broyage au sein de l'alcool comme nous le faisons pour les organes, car, ici, la manipulation ne s'impose pas — dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa. On épuise alors la matière de ses lipides au moyen de l'alcool, en lixiviant pendant au moins dix heures, le nombre de siphonages étant maintenu suffisant et régulier. On termine par un épuisement de trois heures à l'éther anhydre. On distille, dans un ballon de 1.000 centimètres cubes, la liqueur éthérée et les liqueurs alcooliques : la distillation de celles-ci est faite sous pression réduite; on dessèche le résidu par deux affusions successives d'alcool à 96° et une troisième d'alcool absolu, chacune suivie de distillation. On reprend ce résidu par 40 centimètres cubes d'éther anhydre à la température d'ébullition de celui-ci sous réfrigérant ascendant et pendant une quinzaine de minutes. La liqueur éthérée, refroidie et filtrée dans une fiole, le résidu est repris dans les mêmes conditions par du benzène anhydre. La liqueur benzénique est filtrée à son tour, sur le même petit filtre, dans la fiole tarée. On fait, bien entendu, les lavages convenables du ballon ou du filtre. Après ce double traitement éthéré et benzénique de l'extrait alcoolo-éthéré du sang, il subsiste dans le ballon un résidu. Celui-ci est loin d'être négligeable et, de plus, il est phosphoré. Dans une série d'expériences, nous avons vu la fraction du phosphore de l'extrait alcoolo-éthéré, insoluble dans l'éther-benzène, renfermer une quantité de phosphore s'élevant parfois à plus de 10 p. 100 du phosphore lipidique. Ce phosphore est, *pro parte*, soluble dans l'eau, *pro parte*, dans la soude. La reprise par l'éther-benzène s'impose

donc, sous peine de trouver des chiffres de phosphore lipoïdique erronés par excès. D'après M. Lemeland, dont nous suivons en somme la technique, il suffit de reprendre par l'éther. L'habitude, contractée dans nos analyses de tissus, de reprendre à la fois par l'éther et le benzène, a été maintenue, sans que nous ayons vérifié si l'éther seul suffit ici. On distille la liqueur éthéro-benzénique en s'aidant d'une diminution de pression. L'extrait lipidique est maintenu à l'étuve à 100° pendant une heure et pesé après refroidissement. On commence la destruction sulfonitrique de cet extrait dans la fiole même, puis on transvase quantitativement dans un petit matras de Kjeldahl et l'on amène la destruction à son terme avec les précautions d'usage.

Le dosage de l'acide phosphorique est fait d'après la méthode de M. Copaux. Le phosphore lipoïdique est calculé pour 1.000 centimètres cubes de sang; il peut l'être aussi pour 100 parties de matière sèche et pour 100 parties d'extrait lipoïdique.

La technique d'extraction que nous suivons, et qui est, à un minime détail près, celle que nous suivons par les tissus, nous apparaît comme supérieure à celle de Bloor. Dans celle-ci, en effet, la durée de l'extraction par l'alcool-éther est extrêmement brève et il n'est fait aucune reprise. On est en droit de craindre qu'il y ait, d'une part, un déficit dans l'extraction du phosphore lipidique et, d'autre part, une surcharge en phosphore lipidique. Les deux erreurs possibles, étant de sens inverses, se compensent sans doute à peu près, car les chiffres que fournit la méthode de Bloor se trouvent n'être pas très différents des nôtres (90).

II. — *Technique de Copaux.*

Principe. — Lorsqu'on agite une solution de phosphate additionnée d'un acide minéral sulfurique, chlorhydrique, nitrique, etc., avec de l'éther et un molybdate alcalin, il se forme de l'acide phosphomolybdique qui s'unit à l'éther et à l'eau pour former un complexe liquide; ce complexe est de couleur jaune, de densité élevée, non miscible à l'eau mère et peut être séparé par centrifugation. Si la réaction

s'effectue dans des proportions convenables, on obtient trois couches liquides : une couche dense jaune, une couche aqueuse et une couche d'éther en excès qui surnage.

La formule approximative du complexe répond, suivant Copaux, à :



Cette technique exige l'emploi d'une ampoule calibrée du type décrit par Copaux. M^{me} Hinglais se sert, pour le dosage de petite quantité de phosphore, d'une ampoule de Copaux petit modèle, dont la douille est graduée au quarantième de centimètre cube, soit 15 divisions : la capacité est de 40 centimètres cubes, la zone graduée représente 15/40^{es} de centimètre cube, soit un tiers de centimètre cube environ.

Les réactifs nécessaires sont les suivants :

1° Réactif molybdique (Hinglais) (81).

Molybdate de sodium 140 grammes.

Eau distillée q. s. p. 1.000 centimètres cubes.

2° Acide sulfurique concentré 200 grammes.

Eau distillée q. s. p. 1.000 centimètres cubes.

3° Ether exempt d'alcool.

4° Eau distillée pure.

On doit vérifier que ces réactifs soient exempts de phosphore en mélangeant :

Eau distillée 10 centimètres cubes.

Solution sulfurique 10 centimètres cubes.

Ether 8 centimètres cubes.

Agiter et ajouter :

Réactif molybdique, 10 centimètres cubes.

Agiter et centrifuger. La liqueur aqueuse et l'éther doivent rester limpides et incolores.

Solution étalon de phosphore. — On se sert d'une solution de phosphate mono-ammoniacal ou de phosphate mo-

nebasique de potassium rigoureusement vérifiée en phosphore; un centimètre cube de cette solution contient un milligramme de phosphore.

Technique de dosage. — On introduit dans l'ampoule dans l'ordre suivant :

10 centimètres cubes de solution à étudier;

10 centimètres cubes de liqueur sulfurique;

8-10 centimètres cubes d'éther;

on agite, puis on ajoute : 10 centimètres cubes de solution de molybdate de sodium, par fraction de 3 centimètres cubes, en agitant énergiquement après chaque addition. On centrifuge le complexe phosphorique qui se rassemble au fond de la douille. En général, une minute de centrifugation suffit; les graduations de l'ampoule ayant été préalablement établies avec la solution étalon de phosphore et vérifiées, à plusieurs reprises, avec des quantités différentes de phosphore, on pourra, par une lecture volumétrique, déterminer la teneur en phosphore de la solution à titrer.

Il résulte des recherches de M^{me} Hinglais que la graduation des douilles d'ampoules doit être réalisée expérimentalement par le chimiste, en se servant de quantités croissantes de phosphore allant de 0 mgr. 2 à 2 milligrammes, car il y a un léger écart entre les résultats théoriques et les résultats expérimentaux : il n'y a pas proportionnalité absolue entre le volume de complexe de Copaux et la quantité de phosphore présent.

III. — *Technique de Leiboff.*

(Dosage du phosphore dans le sérum sanguin.)

Principe. — Les protéines sont précipitées par l'acide trichloracétique; une partie du filtrat est traitée par du molybdate d'ammonium et du monométhyl-paramidophénol en solution dans du sulfite de sodium. Il se produit une coloration bleue que l'on apprécie au colorimètre, par comparaison avec une solution étalon de phosphore.

Technique. — Dans une éprouvette graduée, on met 2 centimètres cubes de sérum sanguin, on ajoute 4 centimètres cubes d'eau distillée et 4 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 10 p. 100. On agite et on laisse en repos pendant dix minutes, puis on filtre. On recueille 5 centimètres cubes du filtrat dans lesquels on ajoute 3 centimètres cubes d'eau distillée et 1 centimètre cube d'une solution de molybdate d'ammonium et 1 centimètre cube d'une solution de monométhyl-paramidophénol et sulfite de sodium. On renverse l'éprouvette et on laisse cinq minutes à la température de la chambre.

On compare ensuite avec l'étalon au colorimètre.

Préparation de l'étalon : 5 centimètres cubes de solution standard de phosphate sont versés dans une éprouvette; on ajoute :

3 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 10 p. 100;

1 centimètre cube de solution de molybdate d'ammonium;

1 centimètre cube de solution de monométhyl-paramidophénol.

Les deux dernières solutions sont ajoutées en même temps dans l'éprouvette contenant l'étalon et le sérum à doser :

Calcul du résultat :

$$\frac{E}{X} \times 4 = \text{mg. de phosphore p. 100 de sérum.}$$

Préparation des solutions :

Acide trichloracétique :

Solution à 10 p. 100.

Solution de molybdate d'ammonium :

30 grammes de molybdate d'ammonium;

500 centimètres cubes d'eau distillée.

Solution de monométhyl-paramidophénol :

50 grammes de sulfite de sodium;

500 centimètres cubes eau distillée.

A cette solution on ajoute :

5 grammes de monométhyl-paramidophénol.

On agite jusqu'à complète dissolution.

Solution étalon de phosphore : 0 gr. 3509 de phosphate de potassium pur sont dissous dans 1.000 centimètres cubes d'eau, dans une fiole jaugée (solution mère). La solution fille étalon est préparée en diluant à 10 p. 100 la solution mère. Cette dernière solution contient 0 mg. 04 de phosphore dans 5 centimètres cubes de solution.

OBSERVATIONS PERSONNELLES SUR LES TECHNIQUES.

I. — *Minéralisation.*

Quand on veut doser le phosphore total d'un complexe organique tel que le sang, après minéralisation, il faut s'astreindre à une technique longue et minutieuse. Si l'on s'adresse, par exemple, à une petite quantité de sang (5 centimètres cubes), la minéralisation par le mélange sulfonitrique exige au moins trois heures. Il est essentiel de ne pas chauffer trop violemment, pour éviter les pertes d'acide phosphorique. Lorsque, à la fin de la destruction organique, on aperçoit de légères vapeurs blanches mélangées aux vapeurs nitreuses, il faut supprimer le chauffage. En outre, puisque la méthode que nous employons pour doser le phosphore total du sang, c'est-à-dire la méthode de Copaux, nous permet d'opérer la formation du complexe en présence d'acide nitrique, nous ne devons pas chercher à débarrasser le liquide de minéralisation des traces d'acide nitrique. Pour ne pas observer ces principes fondamentaux de la minéralisation, on risque d'avoir des pertes qui peuvent dépasser 20 p. 100.

II. — *Technique de Copaux.*

Lorsque la liqueur de minéralisation est trop acide et que l'on applique la technique de Copaux en ajoutant 10 centimètres cubes de solution sulfurique à 20 p. 100, on constate que la formation du complexe se fait très difficilement et, par conséquent, nous donne ces chiffres erronés

par défaut. Inversement, si l'on opère en milieu insuffisamment acide, la liqueur aqueuse est colorée en jaune intense, ce qui indique que le complexe n'a pas pu se former. Il y a donc une condition essentielle pour que la réaction de Copaux s'effectue quantitativement, *c'est de se placer dans des conditions convenables d'acidité minérale*. Pour cela, il faut tenir compte de la quantité d'acide sulfurique utilisée pour la destruction sulfo-nitrique, et l'on a toujours intérêt à employer peu d'acide sulfurique pour minéraliser.

Un autre facteur extrêmement important s'applique à l'éther. Ce produit doit être rigoureusement pur, *la moindre trace d'alcool empêche toute formation du complexe*. C'est la raison pour laquelle nous purifions l'éther dont nous nous servons en le redistillant.

Aussi tous nos dosages de phosphore ont été faits en tenant compte de ces observations, et voici comment nous opérons.

Pour le dosage du phosphore total du sang, nous minéralisons avec 2 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré pur et de l'acide nitrique en quantité convenable.

Lorsque la minéralisation est terminée, on effectue l'hydrolyse de l'acide pyro-phosphorique, pour le transformer en acide orthophosphorique et l'on amène finalement au volume de 25 centimètres cubes avec de l'eau distillée. On prélève 10 centimètres cubes de ce mélange, que l'on introduit dans l'ampoule de Copaux et l'on ajoute non pas 10 centimètres cubes d'acide sulfurique à 20 p. 100, mais un volume de 4 à 5 centimètres cubes; on termine la formation alors très correcte du complexe suivant la technique.

III. — Valeur des chiffres fournis par l'extraction des phospho-lipides du sang.

Nous avons également voulu nous rendre compte de la valeur de la méthode d'extraction des phospho-lipides du sang, telle que MM. Javillier et Fabrikant la pratiquent.

Dans ce but, nous avons employé une solution de glycérophosphate de soude, dont nous avons au préalable déterminé la richesse en phosphore et nous nous sommes placée

dans des conditions telles que les quantités de glycéro-phosphate de soude ajoutées au sang, soient de l'ordre de grandeur de celles de phosphore lipidique trouvées dans le sang normal.

La solution de glycéro-phosphate de soude est telle que 5 centimètres cubes contiennent 0 mg. 39 de phosphore.

Voici les chiffres que nous avons obtenus (aux cas II et III, nous avons ajouté, aux 10 centimètres cubes de sang, non pas 5 centimètres cubes de solution de glycéro-phosphate de soude, mais 10 centimètres cubes) :

CAS	Quantités théoriques	Quantités trouvées	Erreurs en plus
I. Normal...	$1 \text{ mg. } 08 + 0 \text{ mg. } 39 = 1 \text{ mg. } 47$	1,56	1,6 p. 100
II. Normal..	$1 \text{ mg. } 03 + 0 \text{ mg. } 78 = 1 \text{ mg. } 84$	1,92	4,6 p. 100
III. Insuffi- sance gé- nitale...	$1 \text{ mg. } 32 + 0 \text{ mg. } 78 = 2 \text{ mg. } 10$	2,30	8,7 p. 100

La vérification des dosages de phosphore lipidique par la méthode des quantités connues surajoutées décèle une erreur moyenne en plus de 5,83 p. 100.

IV. — Vérification de la méthode de Leiboff avec des solutions de concentration variable en phosphore minéral.

Cette méthode, décrite par l'auteur, a été surtout employée pour doser le phosphore minéral dans le sérum : nous l'avons appliquée au dosage du phosphore du sang total, en prenant la précaution de *laquer* au préalable le sang, car, dans le globule rouge, le phosphore se trouve en abondance à l'état de sels minéraux en dehors des formes organiques existantes. Pour obtenir l'intégralité de la forme minérale, il faut hémolyser les globules rouges pendant un quart d'heure environ, en leur ajoutant de l'eau distillée.

Il faut également déprotéiner. La déprotéinisation par les hydrates colloïdaux métalliques ou par l'alcool nécessite une trop grande dilution. L'emploi de tungstate de soude est impossible, l'acide tungstique précipitant en milieu acide. La défécation trichloracétique est celle que nous avons adoptée.

Dans ces conditions, voici comment nous opérons :

2 centimètres cubes de sang, exactement mesurés, sont versés dans un Becher; la pipette est lavée avec 4 centimètres cubes d'eau distillée que l'on verse sur le sang. On agite, on laisse un quart d'heure au repos, on ajoute 4 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 10 p. 100; on laisse en contact un quart d'heure, on filtre dans une éprouvette, sur un petit filtre sans cendre, de façon à recueillir 5 centimètres cubes de filtrat sur lesquels on effectue le dosage colorimétrique en suivant la technique de Leiboff que nous avons décrite.

Nous avons tenu à nous rendre compte de la valeur de la mesure colorimétrique de cette technique, en nous servant d'un étalon de phosphore tel que 1 cmc. = 0 mg. 1 de phosphore, nous trouvons les valeurs suivantes :

Quantités théoriques Phosphore en mg.	Quantités trouvées Phosphore en mg.	Erreurs
0,050	0,052	4 p. 100 (en plus).
0,1	0,099	1 p. 100 (en moins).
0,150	0,146	3 p. 100 —

Si, d'autre part, on ajoute au sang, sur lequel on a déterminé au préalable la quantité de phosphore minéral, des poids connus de phosphore, voici les résultats que l'on obtient :

Sang contenant, dans 2 centimètres cubes, 0 mg. 0168 de phosphore et provenant d'un sujet atteint de coma diabétique :

Quantités théoriques Phosphore en mg.	Quantités trouvées Phosphore en mg.	Erreurs
0 mg. 042 + 0,05 = 0,092	0,098	6,2 p. 100 (en plus).
0 mg. 042 + 0,1 = 0,142	0,148	4,1 p. 100 —
0 mg. 042 + 0,150 = 0,192	0,186	3,2 p. 100 (en moins).

CAS	Quantités théoriques Phosphore en mg.	Quantités trouvées Phosphore en mg.	Erreurs
Insuffisance gé- nitale, 2 centi- mètres cubes, contiennent 0 mg. 218 de phosphore. . .	$0,0218 + 0,05 = 0,0718$ $0,0218 + 0,1 = 0,1218$ $0,0218 + 0,150 = 0,1718$	0,080 0,122 0,1750	11 p. 100 0,2 p. 100 1,9 p. 100

Les déterminations consignées dans le tableau ci-dessus montrent que l'erreur imputable à la mesure colorimétrique est de 4,6 p. 100 en plus et de 2,4 p. 100 en moins. Ces faits ne surprennent pas, car les dosages colorimétriques effectués de la façon la plus précise donnent, avec des teintes bleues, des erreurs variant entre 2' et 4 p. 100.

Il ressort de ces faits que la méthode de dosage du phosphore dans le sang n'est pas rigoureusement quantitative, même en apportant le plus grand soin, car on obtient des erreurs qui ne dépassent cependant pas 6 p. 100.

La très petite quantité de phosphore présent dans le sang et les petits volumes de sang employés ne permettent évidemment pas une rigueur de résultats, comme on serait en droit de l'attendre si l'on employait les macro-méthodes analytiques. Mais nous pensons que, malgré ces imperfections, la méthode de MM. Javillier et Fabrykant apporte une contribution utile à l'étude du phosphore sanguin, et nous ne doutons pas que les biologistes qui s'occuperont de la question n'arrivent à plus de précision que nous.

CHAPITRE VII.

Résultats obtenus en physiologie et en pathologie.

Nous avons appliqué cette méthode :

1° Chez l'animal;

2° Chez l'Homme :

a) normal;

b) dans des cas pathologiques.

I. — Nous avons fait des dosages sur le sang de 5 chiens différents.

Voici un tableau résumant les résultats obtenus en milligrammes de phosphore dans 1.000 centimètres cubes de sang :

Chiens	A.	B.	C.	D.	E.
Phosphore total. . . .	426	400	444	380	374
Phosphore lipidique.	144,70	116	127	116	136
Phosphore organique					
non lipidique. . . .	229,15	234,75	246,15	221	198,95
Phosphore minéral. .	46,15	49,25	70,85	43	39,05

Chez le chien normal, le phosphore total du sang oscille entre 374 et 444 milligrammes par 1.000 centimètres cubes de sang.

Le phosphore lipidique entre 116 et 144,70 milligrammes.

Le phosphore organique non lipidique entre 198,95 et 246 milligrammes.

Le phosphore minéral entre 39 et 70 milligrammes.

II. — a) Chez les sujets normaux, l'application de la méthode nous a fourni les chiffres suivants, exprimés en milligrammes de phosphore par litre de sang :

Hommes normaux	1	2	3	4
Phosphore total.	321,42	374,29	356,14	390
Phosphore lipidique.	95	130,14	119,14	108
Phosphore organique non lipidique.	100,47	194,21	208,86	246
Phosphore minéral.	25,95	50,08	28,14	36

Les teneurs moyennes sont de :

Phosphore total.	360,48 p. 1.000.
Phosphore lipidique.	113,07 —
Phosphore organique non lipidique.	187,38 —
Phosphore minéral.	35,04 —

Le phosphore lipidique représente 31,37 p. 100 du phosphore total;

Le phosphore organique non lipidique représente 51,98 p. 100 du phosphore total;

Le phosphore minéral représente 9,7 p. 100 du phosphore total.

b) Il était intéressant de rechercher les variations du phosphore du sang au cours de différents états pathologiques, notamment dans le diabète, l'anémie, le rhumatisme chronique et diverses affections des os.

Diabète.

Les variations du phosphore, dans cette affection, ont été étudiées dans :

- a) Diabète bénin, sans dénutrition azotée;
- b) Diabète grave avec dénutrition azotée et acidose;
- c) Coma diabétique.

Byron (93) constate, dans le diabète bénin, une augmentation du phosphore acido-soluble des hématies; dans le diabète grave, il a noté un abaissement du phosphore acido-soluble, et pense que c'est l'acidose qui provoque cette diminution. Il en est de même dans le coma diabétique; mais quand la mort survient, il y a élévation du phosphore inorganique; d'après cet auteur, cette augmentation serait liée

à la rétention rénale. Le traitement par l'insuline favorise un retour du phosphore dans les limites normales.

Les recherches récentes de Siaon-Chen-Chang (94) ont montré qu'après ingestion de glucose, il y a une chute moins grande du taux du phosphore sanguin chez le diabétique que chez le sujet normal.

L'injection de phosphates n'a aucune influence sur la glycémie normale, alors qu'elle fait baisser l'hyperglycémie et abaisse la glycosurie. En associant l'injection des phosphates à l'insuline, l'hyperglycémie est plus abaissée qu'après l'injection d'insuline seule (Desgrez, Rathery et Bierry) (95).

Dans quatre cas de diabète, dont les 2^e, 3^e et 4^e avec forte acidose, nous avons obtenu les résultats suivants :

	P. total	P. lipidique	P. org. non lipidique	P. minéral
Diabète sans dénutrition	—	—	—	—
ni acidose.	364,18	122,50	182	59,68
Diabète grave précoma..	319,58	104	175	42,68
Diabète avec dénutrition				
et acidose.	330	111	160	59
Coma.	293	122	62	8,4

Les teneurs moyennes sont de :

Phosphore total.	326,69	p. 1.000.
Phosphore lipidique.	114,87	—
Phosphore organique non lipidique. . .	144,75	—
Phosphore minéral.	42,44	—

Il est à remarquer que, dans le cas de coma diabétique, la valeur du phosphore organique non lipidique (c'est-à-dire le phosphore engagé dans les molécules des protides, glucides et autres formes encore inconnues) est abaissée.

Anémies et leucémies.

Au cours des anémies et des leucémies provoquant des variations dans le chiffre des éléments figurés du sang

(leucocytes), le taux du phosphore subit également des modifications.

On a fait peu de recherches sur le taux du phosphore total et de ses différentes formes dans ces maladies. W.-R. Bloor et Mc. Pherson (96) ont trouvé, dans un cas de leucémie lymphoïde, une augmentation du phosphore lipidique égale à 132 milligrammes p. 1.000 (« *lécithine* ») et dans des cas d'anémie pernicieuse, un abaissement allant jusqu'à 57 milligrammes p. 1.000.

De nouvelles expériences ont montré que, dans la leucémie aiguë (leucémie à lymphocytes), il y a une diminution considérable du phosphore lipidique et du phosphore organique non lipidique, entraînant une chute du phosphore total. Au contraire, dans la leucémie myéloïde chronique, il y a une grande augmentation (2 à 3 fois la normale) du phosphore lipidique et du phosphore organique non lipidique; de ce fait, le phosphore total se trouve très élevé.

Dans l'anémie, les différentes formes du phosphore subissent une baisse sensible, sauf pour le phosphore minéral; les variations du phosphore, dans ces cas, semblent dues aux modifications des globules rouges et blancs du sang.

Dans trois cas d'anémies graves, nous avons obtenu les chiffres suivants :

	P. total	P. lipidique	P. org non l-p.	P. minéral
	—	—	—	—
I.	301	59,03	104,97	41
II.	560	132	364,88	63,12
III.	373	95	229,25	48,75

Les teneurs moyennes sont de :

Phosphore total.	411,3	p. 1.000.
Phosphore lipidique.	95,34	—
Phosphore organique non lipidique. . .	233,3	—
Phosphore minéral.	50,95	—

Rhumatisme chronique.

On admet, en général, qu'il existe une relation étroite entre le taux du phosphore minéral et celui du calcium sanguin, qui subit des variations dans le rhumatisme chronique. Le dosage du calcium est difficile, les diverses méthodes ne fournissent que le chiffre du calcium total et non la répartition de ce métal sous ses diverses formes dans le sang. C'est pourquoi les auteurs ont pensé que le dosage du phosphore dans cette affection leur fournirait des renseignements utiles. On a constaté une forte augmentation de phosphore organique non lipidique et du phosphore minéral, entraînant une hausse marquée du phosphore total :

Résultats	P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
I.	387	98	245,88	43,12
II.	375	114,08	204,80	56,12

La teneur moyenne est de :

Phosphore total.	381	p. 1.000.
Phosphore lipidique.	101,04	—
Phosphore organique non lipidique. . .	225,34	—
Phosphore minéral.	49,62	—

Des recherches faites sur certaines maladies des os ont donné les chiffres suivants :

Concrétions calcaires aux extrémités des doigts :

	P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
M ^{me} Br. Lan.	448	138	272	38

Le phosphore lipidique représente 30,80 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 60,26 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 8,03 p. 100 du phosphore total.

Maladie de Paget :

	P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
Cr.	424	98	299	27
Dur.	528	136	344	48

Dans ces deux cas la teneur moyenne est de :

Phosphore total.	476	p. 1.000.
Phosphore lipidique.	117	—
Phosphore organique non lipidique. . . .	321,5	—
Phosphore minéral.	37,5	—

Nous rapportons en outre les résultats des dosages de phosphore effectués dans diverses affections :

Insuffisance génitale.

P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
355	132	212,1	10,9

Le phosphore lipidique représente 37,18 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 57,77 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 3,07 p. 100 du phosphore total.

Dans ce cas, le taux du phosphore minéral est fortement abaissé.

Ostéomalacie.

P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
489,96	136	324	29,96

Le phosphore lipidique représente 27,73 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 66,32 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 6,11 p. 100 du phosphore total.

Néphrose lipoïdique.

P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
307	126	145	36

Le phosphore lipidique représente 41,04 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 47,23 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 11,72 p. 100 du phosphore total.

Spondylose rhizomélisque.

P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
443,50	105	309	29,50

Le phosphore lipidique représente 23,67 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 69,67 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 6,65 p. 100 du phosphore total.

Chez un goutteux obèse.

P. total	P. lipidique	P. org. non lip.	P. minéral
363,25	153	179	31,25

Le phosphore lipidique représente 42,11 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore organique non lipidique représente 49,27 p. 100 du phosphore total.

Le phosphore minéral représente 8,60 p. 100 du phosphore total.

CONCLUSIONS.

Dans cette thèse, nous avons donné un aperçu des travaux anciens et récents concernant le rôle du phosphore et de ses différentes combinaisons dans l'organisme; nous avons rappelé ses différentes formes chimiques et nous avons insisté sur l'importance physiologique de ce métal-loïde dans le règne animal et en particulier chez l'homme.

Notre but a été d'apporter une contribution à la détermination du phosphore sanguin sous ses différentes formes.

Nous avons employé les techniques de MM. Javillier et Fabrykant et de Leiboff et nous nous sommes assurée que leur exactitude était suffisante.

Il ressort de l'application de ces méthodes que, dans bon nombre d'affections, on trouve des modifications des formes du phosphore sanguin. Ces modifications portent surtout sur le phosphore organique non lipidique et plus rarement sur le phosphore lipidique, plutôt que sur les phosphates minéraux qui ne varient que dans des limites assez étroites. Ceci nous explique la raison pour laquelle les cliniciens n'ont pu retirer aucune indication utile de l'étude des phosphates minéraux et que, seule, la détermination de la phosphorémie doit être envisagée.

C'est ainsi que, dans le diabète grave, le phosphore organique est très sensiblement diminué au profit du phosphore minéral. Il en est de même dans le rhumatisme chronique. Dans les affections des os, la modification semble porter surtout sur le phosphore organique non lipidique, bien que le phosphore total soit augmenté. Enfin, dans les anémies, les quantités des différentes formes du phosphore sont abaissées, sauf cependant pour le phosphore minéral.

Le travail que nous présentons n'apporte qu'une faible

contribution à l'étude des différentes formes chimiques du phosphore du sang, mais nous pensons que de nombreux dosages, pratiqués suivant les techniques que nous avons adoptées, peuvent rendre des services en physiologie et en pathologie.

VU : *Bon à imprimer,*

Le Président de la Thèse :

H. COUTIÈRE.

VU *et permis d'imprimer :*

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

VU : *reçu par*

P. le Doyen de la Faculté :

Paul GUÉRIN.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.	7
CHAPITRE PREMIER. — <i>Considérations générales sur le métabolisme du phosphore dans l'organisme.</i>	9
Bilan.	9
Physiologie.	12
Rôle du phosphore :	
Dans le métabolisme des protides.	12
Dans le métabolisme des lipides.	13
Dans le métabolisme des glucides.	16
CHAPITRE II. — <i>La biochimie du phosphore.</i>	19
Phosphore minéral.	19
Phosphore organique.	20
Phosphore protidique.	20
Phosphore lipidique (phosphatides).	22
Phosphore glucidique.	23
CHAPITRE III. — <i>Etude du phosphore tissulaire.</i>	28
Indice du phosphore nucléique.	28
Indice du phosphore lipidique.	29
Mode de formation du phosphore tissulaire.	32
Phosphatases.	32
Répartition générale des phosphatases.	33
Rôle physiologique des phosphatases.	33
CHAPITRE IV. — <i>Phosphore sanguin.</i>	37
Phosphatémie.	37
Variations expérimentales de la phosphatémie.	41
Influence :	
Du travail musculaire.	41
De l'adrénaline.	41
De l'insuline.	42
Du glucose.	43
Élimination rénale du phosphore.	45
Phosphaturie apparente.	47
CHAPITRE V. — <i>Historique des techniques.</i>	49
Méthodes :	
Gravimétriques.	49

	Pages.
Volumétriques.	52
Colorimétriques.	54
Opacimétriques.	54
CHAPITRE VI. — <i>Méthodes employées dans ce travail.</i>	56
Dosage du phosphore total.	57
Dosage du phosphore lipidique (Javillier et Fabrykant)	57
Dosage du phosphore minéral (Leiboff)	61
Observations personnelles sur les techniques	63
CHAPITRE VII. — <i>Résultats obtenus en physiologie et en pathologie.</i>	
Sujets normaux.	68
Cas pathologiques :	
Diabète.	69
Anémies et leucémies.	70
Rhumatisme chronique.	72
Insuffisance génitale.	73
Ostéomalacie.	73
Néphrose lipoïdique.	74
Spondylose rhizomélique.	74
Goutteux obèse.	74
CONCLUSIONS.	75
BIBLIOGRAPHIE.	79

BIBLIOGRAPHIE

1. *Balland*. — Les aliments. Analyse, expertise, valeur alimentaire (Baillière, Paris, 1907).
2. *Eggleton*. — *Physiol. Rev.*, 1929 (3), 9, 432.
3. *Javillier*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, juin 1929.
4. *Lemeland*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, 3, 134.
5. *Javillier-Allaire*, M^{me} *Hinglais*. — *Bull. Soc. Pharmacol.*, 1925, 32, 641.
6. *Le Breton* (M^{ne}). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1921, 3, 537.
7. *Mayer et Schaeffer*. — *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1913, 15, 773.
8. *Robison*. — *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 1354.
9. *Embden*. — *Klin-Wochenschrift*, 1929, 913.
10. *Embden et Adler*. — *Ztschr. für Physiol. Chem.*, 1922, 1, 118.
11. *Forrai*. — *Biochem. Ztschr.*, 1923, 142, 328.
12. *Roche* (M. et M^{me}). — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 97, 802.
13. *Lohmann*. — *Biochem. Ztschr.*, 1928, 172, 203.
14. *Hugounenq*. — *Précis de chimie physiologique et pathologique* (Doin, Paris, 1921).
15. *Liebig*. — *Chemische Technologie in Einzeldarstellung*.
16. *Thudichum*. — *Die chemische Konstitution des Geschirns des Menschen und d. Tiere* (Tuebingen, 1901).
17. *Scanoff*. — *Zentralblatt f. Bakteriologie*, 1907, 1908.
18. *Harden et Young*. — *Proc. of the Roy. Soc.*, 1910, 82, 321.
19. *Embden et Grafe*. — *Ztschr. für Physiol. Chem.*, 1921, 108, 113.
20. *A. et J. Roche*. — *C. R. Ac. Sc.*, 1927, 185, 873.
21. *Machebœuf*. — *Thèse médecine*, Paris, 1927.
22. *P. et G.-P. Eggleton*. — *Journ. of Physiol.*, 1928, 65, 15.
23. *Fiske et Subarow*. — *Science* (New-York), 1928, 169. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1927, 22, 74.
24. *P. et G.-P. Eggleton*. — *Biochem. Journ.*, 1927, 21, 190. — *Journ. of Physiol.*, 1927, 63, 155.

25. *Roche*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1928, 1061. — *Loc. cit.*, 1929, 9, 549, 559.
26. *Lemeland*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1921, 3, 134.
27. *Bloor*. — Bull. Soc. chim. biol., 1921, 3, 451.
28. *Bloor*. — Equilibre des lipoides dans le sang. — Journ. of Biol. Chem., 1921, 46.
29. *Bloor*. — Journ. of Biol. Chem., 1920, 44.
30. *Javillier, Allaire, M^{me} Rousseau*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1927, 9, 778.
31. *M. et M^{me} Enselme*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1927, 9, 1017.
32. *Brain et Kay*. — Biochem. Journ., 1927, 21, 1104.
33. *Kay*. — Biochem. Journ., 1924, 18, 1132.
34. *Demuth*. — Biochem. Ztschr., 1925, 159, 415.
35. *Kay*. — Biochem. Journ., 1928, 22, 1446.
36. *L.-J. Besançon*. — Les fonctions internes du rein (Masson, Paris, 1930).
37. *A. et J. Roche*. — C. R. Soc. Biol., 1927, 804.
38. *Plimmer*. — Biochem. Journ., 1928, 22, 325.
39. *Nemec*. — Biochem. Ztschr., 1927, 170, 103.
40. *Brull*. — C. R. Soc. Biol., 1927, 97, 735.
41. *Brull*. — Contribution à l'étude de l'état physico-chimique des constituants minéraux et du glucose plasmatique. Bruxelles.
42. *Euler*. — Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, 1909.
43. *Lawazek*. — Biochem. Ztschr., 1924, 145, 351.
44. *Porte*. — Thèse médecine, Bordeaux, 1914.
45. *Schmidt*. — Charakteristik d. epid. cholera, Leipzig, 1860.
47. *Bell et Doisy*. — Méthode colorimétrique rapide pour la détermination du phosphore dans l'urine et le sang. — Journ. of Biol. Chem., 1920, 44, 55.
48. *Posternak*. — C. R. Ac. Sc., 1926, 724.
49. *Emlden et Margaret Zimmermann*. — Chimie du lactacidogène. Ztschr. für physiol. Chem., 1927, 157, 114.
50. *Barreuscheen, Eisler et Popper*. — Biochem. Ztschr., 1927, 189, 302.
51. *Florence et Tsen Zola*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1927, 9.
52. *Portier et Dural*. — C. R. Soc. Biol., 1928, 1831.
53. *Fleury et Sutu*. — C. R. Soc. Biol., 1926, 95, 976.
54. *Lambling*. — Précis de biochimie (Masson, Paris).

55. *György*. — *Biochem. Ztschr.*, 1925, 161, 175.
56. *Jost*. — *Ztsch. für Physiol. Chem.*, 1926, 113, 126.
58. *M. Labbé et F. Nepveux*. — *Acidose et alcalose* (Masson, Paris, 1928).
59. *Kay, Davenport et Robinson*. — Les éthers hexose-phosphoriques dans l'ossification. — *Biochem. Journ.*, 1924, 18, 655.
60. *Posternak*. — Sur la répartition du phosphore dans le sérum et les globules rouges du sang. — *C. R. Ac. Sc.*, novembre 1926.
61. *Bolliger et Hartmann*. — Les phosphates sanguins et le métabolisme des hydrates de carbone. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1925, 63, 56. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1925, 44, 91.
62. *Aubel et Cahn*. — Rôle du phosphore dans le métabolisme des glucides dans le muscle (Masson, Paris, 1929).
63. *Goiffon et Jourdain*. — *Archiv. malad. appar. digestif*, 1930, 20, 3.
64. *M^{me} Hinglais*. — Contribution à l'étude de la répartition du phosphore dans les organes des vertébrés. (Thèse Doct. ès-sc., Paris, 1928.)
65. *Laudat*. — Etude analytique des lipoides et des matières grasses du sérum sanguin, appliquée à la physiologie et à la pathologie. (Thèse de pharmacie, Paris, 1913.)
66. *Javillier et Allaire*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, février 1925.
67. *Machebœuf*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, 94.
68. *Dhéré et Maurice*. — *C. R. Soc. Biol.*, 1908, 64, 635.
69. *May*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, 970.
70. *Embden*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1928.
71. *Posternak*. — *Bull. Soc. Chim.*, 1920 (4), 27, 507.
72. *Posternak*. — *C. R. Ac. Sc.*, 1920, 170, 930.
73. *Copaux*. — *C. R. Ac. Sc.*, 1921, 173, 656.
74. *M^{me} Hinglais*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, 540.
75. *Le Guyon*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 9, 59.
76. *Clarens*. — *C. R. Ac. Sc.*, 1918, 166, 259.
77. *M^{me} Sörensen*. — *C. R. des travaux du laboratoire de Carlsberg*, 1925, 10, 15.
78. *Machebœuf*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, 8, 464.
79. *Machebœuf et M^{me} G. Zwilling*. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1927, 697.
80. *Pisani*. — *C. R. Ac. Sc.*, 1864, 59, 298.

81. *Denigès*. — Bull. Soc. de Pharmacie de Bordeaux, 1910, 50, 195.
82. *Denigès*. — C. R. Soc. Biol., 1921, 84, 875.
83. *Denigès*. — C. R. Ac. Sc., 1927, 184, 330.
84. *Javillier et Djélatidès*. — Bull. Soc. Chim. biol., 1928, 10.
85. *Tisdall*. — Journ. of Biol. Chem., 1922, 50, 329.
86. *Bell et Doisy*. — Journ. of Biol. Chem., 1920, 44, 55.
87. *Briggs*. — Journ. of Biol. Chem., 1922, 53, 13.
88. *Pouget et Chouchak*. — Bull. Soc. Chim. 1909, 5, 4.
89. *Pouget et Chouchak*. — Bull. Soc. Chim., 1911, 9, 4.
90. *Javillier et Fabrykant*. — Bull. Soc. Chim. Biol., juin 1931.
91. *Euler*. — Chemie der Enzyme, München, 1927.
92. *Abderhalden*. — Handbùch der biologischen Arbeitsmethoden. Berlin und Wien, 1922.
93. *Byron*. — Brit. Journ. Exp. Path., 1929, 10, 10, 15.
94. *Desgrez, Rathery et Bierry*. — C. R. Ac. Sc., 1925, 1554.

